

Zentrum für Zahnmedizin
Klinik für Präventivzahnmedizin, Parodontologie und Kariologie (PPK)
Direktor: Prof. Dr. med. dent. T. Attin

Arbeit unter Leitung von Dr. Valerie Steiger-Ronay

**Veränderung des abrasiven Substanzverlustes durch
Speichelkontakt nach Erosion - eine In-vitro-Studie**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der Zahnmedizin
an der Medizinischen Fakultät
der Universität Zürich

vorgelegt von
Sibel Tektas

Genehmigt auf Antrag von Prof. Dr. med. dent. T. Attin
Zürich 2016

Meinen Eltern gewidmet

Inhaltsverzeichnis

1 Zusammenfassung	5
2 Einleitung und Ziele	7
2.1 Dentale Erosionen - Definition	7
2.2 Klinisches Erscheinungsbild	7
2.3 Epidemiologie	8
2.4 Histologie	9
2.5 Ätiologie und Risikofaktoren	10
2.5.1 Extrinsische Faktoren	10
2.5.2 Intrinsische Faktoren	10
2.5.3 Biologische Faktoren	11
2.5.4 Chemie dentaler Erosionen	11
2.6 Methoden zur Untersuchung dentaler Erosionen	12
2.6.1 Profilometrie	12
2.6.2 Oberflächen-Härtemessung	12
2.7 Erosion im Zusammenhang mit Abrasion	13
2.8 Ziel der Studie	14
3 Material und Methode	16
3.1 Überblick Versuchsablauf	16
3.2 Versuchsvorbereitung	17
3.2.1 Schmelzproben	17
3.2.2 Probanden	18
3.3.1 Einteilung der Schmelzproben	19
3.3.2 Erosion	19
3.3.3 Lagerung in Speichel	20
3.3.4 Abrasion	20
3.3.5 Härtemessung	21
3.3.6 Substanzverlust	22
4.1 Härte der Proben	25
4.1.1 Basishärte	25
4.1.2 Werte nach Erosion	25
4.2 Substanzverlust	27
4.2.1 Mittels Härtemessung erfasster Substanzverlust	27
4.2.3 Mittels Profilometrie erfasster Substanzverlust	30

5 Diskussion	36
5.1 Diskussion der Methode	36
5.2 Diskussion der Ergebnisse	40
5.3 Schlussfolgerung	48
6 Literaturverzeichnis	49
8 Abbildungsverzeichnis	59
9 Eigenleistung	60
10 Verdankung	61
11 Curriculum Vitae	64

1 Zusammenfassung

Ziel der Studie: Das Ziel der vorliegenden Studie war es, mittels zwei verschiedener Messmethoden festzustellen, ob die Abrasionsresistenz von Schmelzproben nach einem Säureangriff durch Lagerung von bis zu zwei Stunden (h) in humanem Speichel erhöht wird. Die beiden Messverfahren sollten anschliessend miteinander verglichen werden.

Material und Methode: Achtzig Schmelzproben wurden in vier Gruppen eingeteilt: Gruppe 1 hatte nach Erosion keinen Speichelkontakt (Kontrollgruppe). Die Gruppen 2 bis 4 wurden jeweils 0.5, 1 bzw. 2 h in Speichel gelagert. Nach der Erosion in 1%iger Zitronensäure und der Lagerung in Speichel wurden alle Proben gebürstet. Hierauf wurde der erfolgte Substanzverlust nach Bestimmung der Mikrohärtigkeit am Härtemessgerät aus letzteren Daten errechnet. Die zweite Methode zur Erfassung des Substanzverlustes bestand in der Aufnahme des Oberflächenprofils mittels Profilometer.

Resultate: Die Mikrohärtigkeit nahm bei allen Proben nach der Erosion deutlich ab. Nach Abrasion der äusseren erodierten Schicht wurde die ursprüngliche Härte unabhängig von der Lagerungszeit in Speichel nicht wieder erreicht. Ebenso wurde bei allen Proben ein irreversibler Substanzverlust festgestellt. Die mittels Härtemessgerät errechneten Werte zeigten, dass der höchste Substanzverlust in der Kontrollgruppe ohne Speichelkontakt vorlag ($198 \text{ nm} \pm 19$). Die Werte der Gruppen 2 bis 4 lagen deutlich tiefer (110 ± 10 , 114 ± 11 und $105 \pm 14 \text{ nm}$). Dieser Unterschied war statistisch signifikant ($p < 0.05$). Die Ergebnisse des Profilometers zeigten ebenfalls einen Substanzverlust bei allen Proben. Mit zunehmender Lagerungsdauer wurde dieser geringer (122 ± 8 , 114 ± 9 , 110 ± 4 und $105 \pm 5 \text{ nm}$), wobei jedoch nur eine

Tendenz und keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen gefunden werden konnte. Die Intra-Klassen-Korrelation für die Inter-Rater-Reliabilität zwischen den beiden Messmethoden betrug 0.21 (CI: 0.1-0.3).

Schlussfolgerung: Unter den vorliegenden Versuchsbedingungen konnte durch eine bis zu zweistündige Speichel-Inkubation kein Erreichen der initialen Mikrohärtigkeit der Schmelzproben festgestellt werden. Hinsichtlich der Grösse des Substanzverlustes liessen sich die Ergebnisse der beiden Messverfahren nicht miteinander vergleichen.

2 Einleitung und Ziele

2.1 Dentale Erosionen - Definition

Zahnerosionen sind das Resultat eines durch Säuren verursachten chronischen, lokalisierten, schmerzlosen und pathologischen Zahnhartsubstanzverlustes, verursacht durch säurehaltige Nahrung (extrinsisch), regelmässiges Erbrechen oder Reflux (intrinsisch) (Ten Cate und Imfeld 1996). Sie stellen eine häufige und relevante Erkrankung der Zahnhartsubstanz dar (Jaeggi und Lussi 2014).

2.2 Klinisches Erscheinungsbild

Die Diagnostik früher Stadien von Erosionen stellt eine Herausforderung dar. Die Erscheinung weicher, matter Oberflächen ist ein erstes Anzeichen beginnender Erosionsschäden. Initiale Läsionen treten koronal der Schmelz-Zement-Grenze auf, wobei entlang des Margo gingivae ein schmales Schmelzareal intakt bleibt. Dies könnte auf die durch Plaque erzeugte Diffusionsbarriere für Säuren zurückzuführen sein oder auf die protektive Wirkung gegenüber Säuren durch Sulkusfluid (Lussi und Jaeggi 2008; Magalhães et al. 2009). Abgerundete, furchige Kanten und überstehende Füllungen sind das Zeichen fortgeschrittener Läsionen (Bartlett 2005; Stafne und Lovestedt 1947). In gewissen Fällen verschwindet die charakteristische okklusale Morphologie (Magalhães et al. 2009).

Die klinische Unterscheidung der Erosion von anderen Formen des Zahnhartsubstanzverlustes, wie beispielsweise der Attrition oder Abrasion, kann anspruchsvoll sein, zumal diese teilweise auch kombiniert auftreten (Milosevic 1993; Ganss et al. 2002).

Um die Progression einer Erosion klinisch zu beurteilen, werden aktive von inaktiven Läsionen unterschieden. Während weiche und farblose Oberflächen eine aktive Läsion andeuten, sprechen Verfärbungen (Stain-Ablagerungen) der erodierten

Flächen für eine inaktive Läsion. Durch ständige Veränderung der Oberfläche aktiver Bereiche sind Farbablagerungen nicht möglich. Wird die Erosion inaktiv, so besteht genügend Zeit für Verfärbungen dieser Oberfläche (Bartlett 2005).

Klinisch können Erosionen in drei Klassen eingeteilt werden: Sind nur oberflächliche, schmelzbegrenzte Schäden erkennbar, entspricht dies der Klasse I. Eine fortgeschrittene Läsion, welche bereits das Dentin betrifft, jedoch weniger als ein Drittel der Oberfläche ausmacht, beschreibt die Klasse II. Bei der Klasse III handelt es sich um über ein Drittel beschädigte Zahnhartsubstanz inklusive Dentin (Ten Cate und Imfeld 1996).

Obwohl Erosionen in den meisten Fällen schmerzlos für die Patienten sind (Ten Cate und Imfeld 1996), wurde in einigen Studien ein Zusammenhang zwischen Erosionen und Hypersensibilität der Zähne festgestellt. Meurman et al. (1991) beschrieben eine Vergrößerung der Dentintubuli und damit Exposition innerer Dentinanteile, ausgelöst durch erosive Substanzen, welche zu einer Dentinhypersensibilität führen könnten. Dies kann für die Patienten das klinisch bedeutendste Symptom darstellen (Dababneh et al. 1999; Lutskaia et al. 2015; Stafne und Lovestedt 1947).

2.3 Epidemiologie

Erosionen stellen in westlichen Gesellschaften eine häufige Zahnerkrankung dar und nehmen epidemiologisch stetig zu (Jaeggi und Lussi 2014). Sowohl bleibende als auch Milchzähne können betroffen sein. Erosionen werden demnach häufig auch bei Kindern festgestellt (Al-Malik et al. 2002; Mantonanaki et al. 2013; Larsen et al. 2005). Sobald die erste Oberfläche eines Milchzahnes die Mundhöhle erreicht, kann der Kontakt zu intrinsischen oder extrinsischen Säuren Erosionsschäden hervorrufen (Jaeggi und Lussi 2014). Kinder von Eltern mit höherem sozioökonomischem Hintergrund bzw. höherem Bildungsstatus zeigen dabei eine grössere Prävalenz

betreffend Erosionen als Kinder von Eltern mit niedrigerem Bildungsstatus (Millward et al. 1994; Luo et al. 2005; Manguiera et al. 2009). Wiegand et al. (2006) untersuchten 463 Kinder im Alter zwischen zwei bis sieben Jahren. Die Prävalenz von Erosionen belief sich hier auf 32%, wobei mit zunehmendem Alter auch die Prävalenz eine ansteigende Tendenz aufwies.

Auch bei älteren Kindern und Jugendlichen treten dentale Erosionen mit unterschiedlicher Häufigkeit und Schweregrad auf (Jaeggi und Lussi 2014; El Karim et al. 2007). Im Gegensatz zu Kindern konnte bei Jugendlichen kein Zusammenhang zwischen sozioökonomischem Hintergrund der Eltern und dem Auftreten von Erosionen gefunden werden (Mulic et al. 2013; Gurgel et al. 2011). Jugendliche die jedoch angaben, häufig erosive Getränke einzunehmen, trugen ein höheres Risiko für die Entstehung von Erosionen (Kumar et al. 2013; Hou et al. 2009). Des Weiteren konnte in einer Querschnittsstudie von Ganss et al. (2001) gezeigt werden, dass bei Kindern, welche schon im Milchgebiss Erosionen entwickelten, ein signifikant höheres Risiko für erosive Schäden an der bleibenden Dentition besteht.

2.4 Histologie

Erosionen hinterlassen auf dem Zahnschmelz charakteristische histologische Merkmale. Nach einem Säureangriff imponiert dieser durch eine aufgeraute Struktur, ähnlich dem Ätzmuster, welches aus der Adhäsivtechnik bekannt ist (Ganss et al. 2014a). In einer Studie von Attin et al. (1997) zeigte die Schmelzoberfläche im Elektronenmikroskop nach einer Erosionszeit (mit Sprite, pH = 2.91) von 15 min ein alternierendes Muster: Während die interprismatischen Schmelzanteile unbeeinflusst blieben, schienen die Prismenzentren von der Säure beschädigt worden zu sein. Bei zusätzlich abradiertem Schmelz waren neben einer gleichmässig rauen Oberfläche Spuren von Borsten erkennbar.

Ausserdem scheint die histologische Erscheinung in Abhängigkeit von der Aktivität einer Läsion zu stehen: Zeigen inaktive Läsionen ein eher wabenförmiges Erscheinungsbild, sind aktive Läsionen von eher unregelmässiger Struktur. Hier sind am Schmelz allenfalls weitere chemische und mechanische Prozesse wirksam (Mannerberg 1961; Ganss et al. 2014b).

2.5 Ätiologie und Risikofaktoren

2.5.1 Extrinsische Faktoren

Die Ernährung spielt eine zentrale Rolle in der Entstehung von extrinsischen Erosionen. Generell kann eine Zunahme im Konsum säurehaltiger Getränke festgestellt werden (Lussi et al. 2004b; Stafne und Lovestedt 1947). Je höher die Einnahmefrequenz ist, desto grösser ist das Risiko für die Bildung einer Erosion (Lussi et al. 2002; Lussi und Schaffner 2000). Besondere Trinkgewohnheiten, wie beispielsweise das Nippen von Getränken steigern die Zeit des Säurekontaktes (Magalhães et al. 2009). Das Risiko, Schäden an der Zahnhartsubstanz zu entwickeln, wird wiederum durch die längere Verweildauer erosiver Getränke im Mund erhöht (Johansson et al. 2002).

2.5.2 Intrinsische Faktoren

Auch intrinsische Erosionen stehen im Fokus der Erosionsforschung: Sie werden durch Magensäure, welche beim Erbrechen oder durch Reflux die Mundhöhle passiert und dabei Kontakt zu den Zähnen hat, erzeugt (ten Cate und Imfeld 1996). Damit sich dentale Erosionen, verursacht durch Magensäure, klinisch manifestieren, müssen Erbrechen bzw. Aufstossen mindestens einmal pro Woche über mehrere Jahre auftreten. Sie werden ausgelöst durch Erkrankungen des oberen Gastrointestinaltraktes, Stoffwechselerkrankungen, endokrine Störungen,

Medikamentennebenwirkungen, Drogenmissbrauch und psychogenes Erbrechen (Anorexia und Bulimia nervosa) (Scheutzel 1996). Die intrinsisch hervorgerufenen Erosionen hinterlassen dabei ein spezifisches klinisches Muster, genannt Perimolysis: Dabei sind im Oberkiefer die palatinalen und okklusalen Zahnflächen betroffen, während im Unterkiefer die bukkalen und okklusalen Anteile Erosionsspuren aufweisen (Ten Cate und Imfeld 1996).

2.5.3 Biologische Faktoren

Speichel, Pellikel, Zahnstruktur und -position (Young und Khan 2002) zählen zu den biologischen Faktoren, die mit der Entstehung von Erosionen in Verbindung gebracht werden (Lussi und Jaeggi 2008). Speichel stellt aufgrund seines neutralisierenden Potentials gegenüber Säuren den wichtigsten Faktor für den Schutz vor Erosionen dar (Lussi und Ganss 2014). Er besitzt auch die Fähigkeit, eine den Schmelz bedeckende und damit schützende Membran, die sogenannte Pellikel, zu bilden und bereits erodierten Schmelz mit Ionen wie Calcium, Phosphaten oder Fluoriden zu versorgen, welche die Demineralisationsrate verringern (Buzalaf et al. 2012).

Young und Khan (2002) beobachteten, dass Zahnflächen in Abhängigkeit zu ihrer Position in der Mundhöhle anfälliger oder resistenter gegenüber Säuren reagieren. Flächen mit höherem Speichelkontakt, wie beispielsweise die Lingualflächen von unteren Molaren, wiesen deutlich niedrigere Läsionsraten auf (1.7%) als die Labialflächen der oberen Incisivi (36%).

2.5.4 Chemie dentaler Erosionen

Die Pellikel (acquired pellicle oder sekundäres Zahnoberhäutchen), ein proteinhaltiger, bakterienfreier Film, welcher die Zahnoberflächen bedeckt (Lendenmann et al. 2000), stellt eine natürliche Barriere für Säuren dar (Cheaib und

Lussi 2011; Hannig et al. 2007; Lendenmann et al. 2000). Damit Säuren eine schädliche Wirkung am Zahnschmelz entfalten können, müssen sie die bestehende Pellikel durchdringen und in direkten Kontakt zum Schmelz treten (Lussi und Jaeggi 2008). Das erosive Potential einer Säure hängt von diversen chemischen Faktoren wie pH-Wert, titrierbare Säure (Attin et al. 2005; Lussi und Jaeggi 2008) aber auch von ihrer Viskosität ab. Je höher diese ausfällt, umso weniger erosiv ist eine Säure (Aykut-Yetkiner et al. 2014).

Zusätzlich bestimmt der Calcium-, Phosphat-, bzw. Fluoridgehalt eines Nahrungsmittels die Sättigung gegenüber dem Zahnschmelz und somit, ob es zu einer chemischen Auflösung an der Zahnhartsubstanz kommt oder nicht. Übersättigte Lösungen werden die Zahnoberfläche nicht auflösen (Lussi und Jaeggi 2008).

2.6 Methoden zur Untersuchung dentaler Erosionen

2.6.1 Profilometrie

Der durch Erosion hervorgerufene Substanzabtrag kann durch Kontaktprofilometrie bestimmt werden, indem mit einer Nadel die Oberflächenstruktur abgetastet und aufgezeichnet wird. Dadurch wird die Morphologie einer Probe wiedergegeben, wobei zusätzlich der Substanzabtrag gemessen werden kann (Attin et al. 1997). Das Auflagegewicht des Tasters beträgt wenige Millinewton (Beyer et al. 2012).

2.6.2 Oberflächen-Härtemessung

Mit Härtemessungen können frühe Stadien von Schmelzschäden festgehalten werden. Dabei wird ein Diamant, der in der Form einer langgestreckten Pyramide angeschliffen ist, über eine gewisse Zeit mit einer bestimmten Kraft in die Schmelzoberfläche eingedrückt (Jaeggi und Lussi 1999). Wurde die Länge eines

Eindrucks gemessen, kann über eine Formel die Härte errechnet werden. Zusätzlich besteht die Möglichkeit den Substanzverlust zu ermitteln, indem die Tiefe der Eindrücke gemessen wird. Die Differenz der Tiefen vor und nach Abrasion liefert das Ergebnis für den Substanzverlust an der entsprechenden Stelle (Jaeggi und Lussi 1999).

2.7 Erosion im Zusammenhang mit Abrasion

Beobachtungen zufolge manifestieren sich Erosions- und Abrasionsschäden einzeln oder sie interagieren miteinander. Der wichtigste Aspekt dieser Wechselwirkung ist die Verstärkung der Abrasion durch eine zuvor erfolgte Erosion (Addy und Shellis 2006).

Die Abrasion ist definiert als durch zusätzliche Komponenten (z.B. Zahnpasta) verursachter mechanischer Zahnabrieb und kann je nach Ursache lokal oder generalisiert auftreten (Ten Cate und Imfeld 1996; Bartlett 2005).

Zahnpasta stellt den Hauptverursacher für Abrasionen dar, wobei individuelle Faktoren wie Zahnputzgewohnheiten, Auflagekraft, Zeit und Frequenz mitwirken (Addy und Hunter 2003). Die Eigenschaften einer Zahnbürste sind weniger bedeutend, wobei die Steifheit der Borsten am ehesten einen Einfluss auf den Zahnabtrag hat (Wiegand et al. 2008).

Eine Säureattacke führt je nach Intensität zu Demineralisierung bis zu vollständiger Erosion mit irreversiblen Substanzverlust (Attin et al. 2004; Attin et al. 2001). Je länger die Zahnoberfläche dabei einer Säure ausgesetzt ist, desto mehr nimmt die Härte im verbleibenden Gewebe ab und die Zahnoberfläche wird anfälliger für weiteren mechanisch verursachten Abtrag (Attin et al. 1997).

Mehrere Studien belegen, dass eine sofortige Abrasion nach einem Säureangriff zu grösserem Substanzverlust am Zahnschmelz führt, als wenn diese erst nach einer

gewissen Latenzzeit erfolgt. (Jaeggi und Lussi 1999; Attin et al. 2004; Addy und Shellis 2006). Es stellt sich daher die Frage, ob Speichel während dieser Latenzzeit in der Lage ist, teilerodierten Zahnschmelz über eine Remineralisation vor weiterem Abtrag zu schützen (Amaechi und Higham 2001). Attin et al. (2000) konnten eine umso grössere Abrasionsresistenz an erodiertem Zahnschmelz feststellen, je länger die Kontakt- bzw. Remineralisationszeit in Speichel betrug. In Studien werden Remineralisationszeiten von 30 (Attin et al. 2004; Lussi et al. 2014) bis 60 min (Attin et al. 2001; Jaeggi und Lussi 1999) empfohlen. Ganss et al. (2007) konnten zur Steigerung der Abrasionsresistenz hingegen keine Vorteile von bis zu 120 min Wartezeit feststellen. Der minimale zeitliche Abstand des Zähneputzens nach einer säureinduzierten Demineralisation der Zahnoberfläche ist folglich immer noch umstritten.

2.8 Ziel der Studie

Im Hinblick auf die ansteigende Tendenz erosiver Zahnhartsubstanzschäden in der Bevölkerung (Jaeggi und Lussi 2014), deren Auftreten bereits im Kindesalter (Millward et al. 1994; Wiegand et al. 2006) und den weiter zunehmenden Konsum erosiver Nahrungsmittel als wesentlichen Risikofaktor hierfür (Lussi et al. 2004b; Stafne und Lovestedt 1947), besteht die Dringlichkeit, neue Empfehlungen für die Prävention dentaler Erosionen zu ermitteln. Das primäre Ziel der vorliegenden Studie war es, mittels zwei verschiedener Messmethoden festzustellen, ob die Abrasionsresistenz von Schmelzproben nach Erosion durch eine Lagerung von bis zu zwei Stunden in humanem Speichel erhöht wird.

Im Rahmen dieser interuniversitären Studie standen zudem die verwendeten Messmethoden im Fokus: Die Resultate des Härtemessgeräts sowie der

Oberflächen-Profilometrie sollten sich einerseits ergänzen und sollten andererseits miteinander verglichen werden und somit neue Aspekte in der Forschung dentaler Erosionen aufzeigen.

3 Material und Methode

3.1 Überblick Versuchsablauf

Der Versuchsablauf wird in Abbildung 1 veranschaulicht. Für den Versuch wurden 20 bovine Zähne verwendet, aus welchen jeweils vier Schmelzproben gewonnen wurden. Von zehn Probanden wurde Speichel gesammelt. Jedem Probanden wurden die Proben von zwei Zähnen zugeteilt. Zu Beginn wurde bei allen Schmelzproben eine Basismessung für Härte und Profilometrie durchgeführt. Anschliessend wurden diese erodiert und erneut die Härte gemessen. Die Proben eines jeden Zahns wurden entsprechend ihrer Lagerungsdauer im Speichel in vier Gruppen eingeteilt: keine Lagerung (Gruppe 1), 0.5 h (Gruppe 2), 1 h (Gruppe 3) und 2 h Lagerungsdauer (Gruppe 4). Nach Abrasion aller Schmelzproben erfolgten die finale Härte- /Tiefenmessung sowie die Schlussprofilometrie.

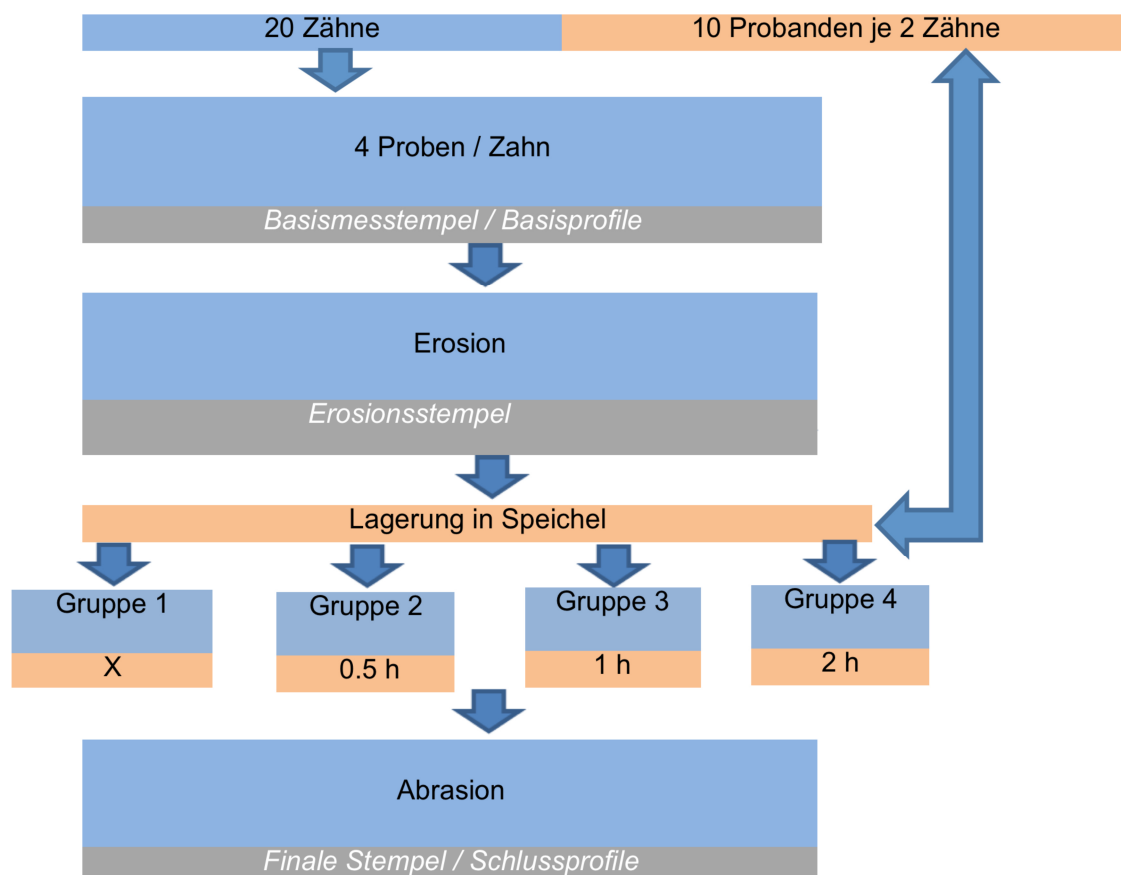


Abbildung 1: Versuchsablauf Übersicht, je 2 Zähne wurden mit dem Speichel eines Probanden behandelt (20 Zähne/10 Probanden)

Die Herstellung der Proben, die Speichelanalysen sowie die Profilometriemessungen fanden in Zürich am ZZM im wissenschaftlichen Labor der PPK statt. Die Politur der Proben, Härtemessungen und Erosions- bzw. Abrasionsversuche wurden in Bern am ZMK (Zahnmedizinische Kliniken der Universität Bern) im Labor für Kariologie und dentale Erosionen durchgeführt. Während des Transports wurden die Schmelzproben in Leitungswasser gelagert.

3.2 Versuchsvorbereitung

3.2.1 Schmelzproben

Die Versuche wurden mit bovinen Zähnen durchgeführt. Dafür wurden 20 Unterkiefer-Frontzähne extrahiert und die Wurzeln mit einem Einwegskalpell vom Desmodont befreit. Die nachfolgende Lagerung erfolgte in 0.1%igem Thymol. In einem weiteren Schritt wurden die Zahnkronen von den Wurzeln getrennt (Isomet low speed saw, Buehler, Düsseldorf, Deutschland), und die Kronenpulpa mit einer Endofeile manuell aus dem Kavum entfernt. Mit einem diamantierten Hohlbohrer (Eigenkonstruktion Labor PPK; Bohrmaschine: Proxxon, Brütsch/Rüegger, Urdorf, Schweiz) wurden hierauf aus der labialen Fläche jeder Krone fünf Schmelzproben mit einem Durchmesser von je 3 mm herausgearbeitet. Danach folgte die Einbettung in Paladur (Pala, Paladur, Haraeus Kulzer, Hanau, Deutschland). Dazu wurden die Schmelzproben in vorgefertigte, zylinderförmige Silikonformen mit einem Durchmesser von 6 mm platziert. Das Paladur wurde nach Vorschrift gemischt, um die Schmelzproben gegossen und ausgehärtet, damit diese bündig vom Kunststoff gefasst wurden. Um die Planparallelität für die Versuche zu gewährleisten, wurde die Rückseite der Prüfkörper mit einer Fräse (Proxxon, Brütsch/Rüegger, Urdorf, Schweiz) plangeschliffen. Anschliessend folgte der Feinschliff der Proben (Tegamin 30, Struers, Birmensdorf, Schweiz) unter Wasserkühlung mittels Schleifscheiben

(Gekko-Papier, Struers, Birmensdorf, Schweiz) von aufsteigender Feinheit (#1200, #2500, #4000). Beidseits neben der Probe wurde im Paladur jeweils eine Einkerbung eingeritzt um für den Profilometrietaster den späteren Messbereich zu definieren (s.u.). Die Feinpolitur wurde im Labor des ZMK in Bern (Klinik für Zahnerhaltung, Präventiv- und Kinderzahnmedizin, Direktion Prof. Dr. A. Lussi) mit einer Polierpaste (Diamantpaste der Feinheit 3 μm und 1 μm , LaboPol-6, Struers, Birmensdorf Schweiz) durchgeführt. Die Lagerung der Proben erfolgte in Leitungswasser.

3.2.2 Probanden

Die Studie wurde durch die Kantonale Ethikkommission Zürich geprüft und genehmigt (KEK-ZH-Nr. 2015-0064, „Will waiting with toothbrushing after an erosive attack avoid tooth wear“). An der Studie nahmen zehn Probanden - vier männliche und sechs weibliche - im Alter zwischen 27 und 63 Jahren teil. Die Teilnahme war freiwillig und konnte nur erfolgen, wenn die Probanden volljährig, bei guter Gesundheit und Nichtraucher waren. Ebenfalls durfte keine Medikation, Hyposalivation (< 2.0 ml stimulierter Speichel/min), zu geringe Pufferkapazität (< 0.07 ml HCl 0.1 M/ml Mundflüssigkeit bis pH 7.5) oder Schwangerschaft/Stillen vorliegen.

Nach schriftlicher und mündlicher Aufklärung über die Studie und nach Abgabe einer schriftlichen Einverständniserklärung wurden die Probanden gebeten, an zwei Tagen morgens während 10 min mindestens 10 ml Speichel durch Kauen eines Paraffinblocks zu sammeln (stimulierte Speichelsammlung). Vor Beginn der Speichelspende durfte zwei Stunden lang nicht gegessen werden.

Der Speichel jedes Studienteilnehmers wurde vorgängig untersucht, wobei die Speichelfliessrate, der pH-Wert, die Pufferkapazität, der Calcium- sowie der

Phosphat-Gehalt erfasst wurden. Bei allen Probanden lagen diese Parameter im Normbereich.

3.3 Versuchsdurchführung

3.3.1 Einteilung der Schmelzproben

Je zwei Zähne wurden einem Speichelspender zugeordnet. Die Proben wurden vier Gruppen zugeteilt, sodass aus jedem Zahn je eine Probe in jeder Gruppe untersucht wurde. Dies sollte die Streuung der Ergebnisse verringern. Die Proben aller Gruppen wurden gleichermassen erodiert. Danach folgte jedoch eine unterschiedlich lange Lagerung in Speichel, bevor eine Abrasion durchgeführt wurde (Übersicht siehe Tabelle 1). Gruppe 1 (Kontrollgruppe) wurde nicht in Speichel zwischengelagert, Gruppe 2 wurde für 30 min, Gruppe 3 für 1 h und Gruppe 4 für 2 h in Speichel inkubiert.

	Erosion	Speichel	Liegedauer im Speichel	Abrasion
Gruppe 1 (n=20)	Ja	Nein	-	Ja
Gruppe 2 (n=20)	Ja	Ja	30 min	Ja
Gruppe 3 (n=20)	Ja	Ja	1 h	Ja
Gruppe 4 (n=20)	Ja	Ja	2 h	Ja

Tabelle 1: Einteilung der Schmelzproben in ihre Gruppen (n=20) nach Lagerungszeit in Speichel (0, 0.5, 1, 2 h).

3.3.2 Erosion

Vor der Erosion wurde auf allen Schmelzproben jeweils links und rechts parallel ein Teil des Schmelzareals mittels Klebeband abgeklebt. So entstanden Referenzbereiche (ca. 0.5 mm auf jeder Seite) um später den Substanzverlust ermitteln zu können (s.u.). Die freiliegende zentrale Erosionsbreite betrug somit ca. 2 mm. Anschliessend wurden die Schmelzproben 2 min lang in 50 ml 1%iger Zitronensäure (pH: 3.6) bei 37 °C in einem Wasserbad (P-D Industriegesellschaft,

Prüfgerätewerk, Dresden, Deutschland) unter Bewegung (75 Rotationen/min) erodiert. Die Proben wurden daraufhin 30 s mit Leitungswasser abgespült und mit Druckluft getrocknet. Nach diesem Schritt wurde eine weitere Härtemessung durchgeführt.

3.3.3 Lagerung in Speichel

Entsprechend der Gruppengliederung (s.o.) wurden die Proben entweder nicht (Gruppe 1 - Kontrolle), 30 min (Gruppe 2), 1 h (Gruppe 3) oder 2 h (Gruppe 4) lang in Speichel gelagert. Dazu wurden die Proben einzeln in je 1 ml gesammeltem Speichel eingelegt und in einem 37 °C warmen Wasserbad (Gesellschaft für Labortechnik, Burgwedel, Deutschland) mit 95 Rotationen/min für die entsprechende Zeit bewegt. Bei der Gruppe 4 wurde der Speichel nach einer Stunde durch frischen Speichel ersetzt. Nach der Lagerung im Speichel wurden die Proben 30 s mit Leitungswasser abgespült und waren bereit für die Abrasion.

3.3.4 Abrasion

Die Proben wurden in einer Bürstmaschine (Syndicad, München, Deutschland) befestigt. Eine Suspension, welche zu einem Teil aus Zahnpasta (Elmex rot®, GABA, Therwil, Schweiz) und zu zwei Teilen aus Wasser bestand, wurde über die Probe gegossen. Jede Probe wurde mit 100 Bürststrichen mit einer Zahnbürste (ADA, American Dental Association, East Chicago, USA) bei einer Frequenz von 120 Strichen/min abradert. Dabei betrug ihr Auflagegewicht 200 g. Anschliessend wurden die Proben mit entionisiertem Wasser abgespült und getrocknet. Nach dieser Prozedur wurden die finalen Stempel gesetzt.

3.3.5 Härtemessung

Die Härtemessungen wurden am ZMK Bern im Labor für Kariologie und dentale Erosionen durchgeführt. Dazu wurde ein Härtemessgerät (Härtemessgerät, Technische Mikroskopie, Walter Uhl, Asslar, Deutschland) benutzt. Sechs Stempeleindrücke wurden im Abstand von 25 µm gesetzt und anschliessend vermessen. Dafür wurde ein Knoop-Diamant 20 s mit einem Auflagegewicht von 50 g (0.49 N) in die Schmelzoberfläche gedrückt. Die plane Schmelzoberfläche wurde so platziert, dass der Diamant des Härtemessgeräts exakt im rechten Winkel auf die Oberfläche auftraf und einen symmetrischen Abdruck hinterliess. Die Knoop-Härte (HK) wurde aus der Länge wie folgt berechnet:

$$HK = 1.451 \frac{F}{l_D^2}$$

F = Prüfgewicht in N

l = Diagonalen - Länge des Eindrucks in mm

Nach der Erosion und nach der Abrasion wurden jeweils neue Härtemessungen durchgeführt.

3.3.6 Substanzverlust

Die für die Härtemessung erstellten Eindrücke wurden für die Berechnung des Substanzverlustes nach Erosion bzw. nach Abrasion herangezogen. Durch Messung der Länge (l) des Eindrucks, konnte die maximale Tiefe (d) gemäss folgender Formel berechnet werden:

$$\Delta d = \frac{0,5 l \Delta}{\tan 86,25^\circ}$$

Die Länge aller frischen Eindrücke vor den Versuchen (Basis), nach Erosion und nach Abrasion wurde erfasst. Die Erosionsstempellängen wurden nach Abrasion erneut gemessen (siehe Tabelle 2, grau unterlegte Felder). Die Tiefendifferenz des Erosionseindrucks vor und nach Abrasion ergab den Substanzabtrag an dieser Stelle. Der durchschnittliche Wert der sechs Eindrücke wurde als errechneter Substanzverlust des Schmelzes durch Abrasion betrachtet.

	Basiseindruck		Erosionseindruck		Finaler Eindruck	
	setzen	messen	setzen	messen	setzen	messen
vor Erosion	n=6	6				
nach Erosion			n=6	6		
nach Abrasion				6	n=6	6

Tabelle 2: Zeitpunkt der Längenmessungen aller Eindrücke (Erosionseindruck wurde zweimal gemessen).

Bei jeder Probe wurde in Zürich ausserdem als zweite Methode zur Berechnung des Substanzverlustes eine profilometrische Messung (Profilometer, Perthometer S2, Göttingen Deutschland) vor Versuchsbeginn und nach Abschluss aller Versuche durchgeführt. Dazu wurde der Taster (Mahr GD 25, MFW-250, Göttingen Deutschland) von links nach rechts über eine Distanz von 4.8 mm über die

Schmelzoberfläche geführt. Dabei wurde die Höhe der Oberfläche in $0.5\text{ }\mu\text{m}$ Schritten abgetastet und registriert. Pro Probe wurden fünf Profile im Abstand von jeweils $250\text{ }\mu\text{m}$ mit einer vertikalen Auflösung von 8 nm aufgezeichnet. Als Referenzflächen dienten die nicht erodierten, ursprünglich abgeklebten Schmelzareale (siehe Abbildung 2). Eine Einkerbung der Proben am äusseren Rand des Paladurs und zwei ebenfalls im Kunststoff eingravierte parallele Linien dienten als Positionierungshilfen. Die Initialmessung wurde durch das Programm des Profilometers mit der finalen Messung übereinander gelegt, so dass der mittlere Substanzverlust pro Profil errechnet werden konnte.

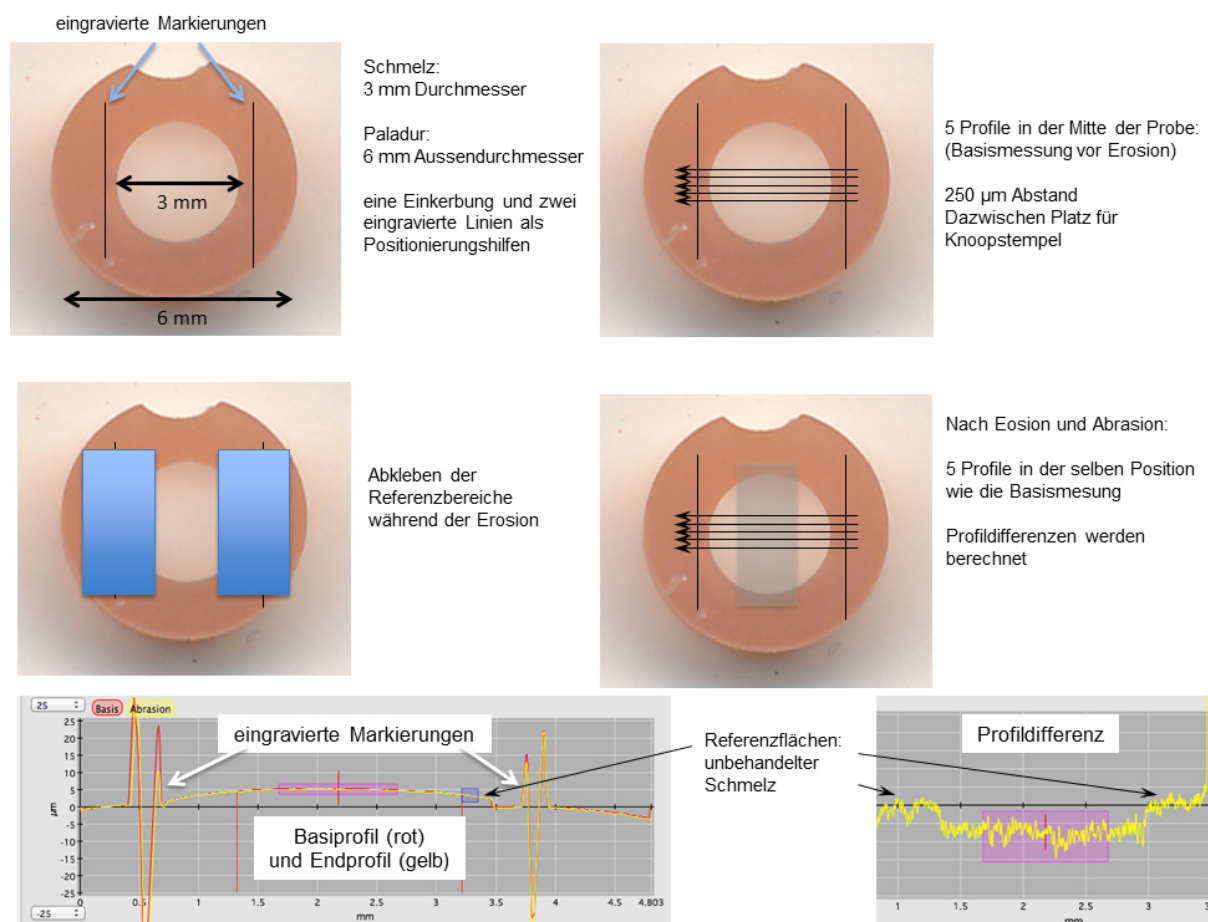


Abbildung 2: Schematische Darstellung der verwendeten Schmelzproben sowie profilometrische Darstellung der vermessenen Schmelzoberflächen mit entsprechenden Referenzflächen.

3.4 Statistische Analyse

Für die deskriptive Statistik wurden die Mittelwerte und Standardabweichungen der Härte- und Profilometriewerte zusammen mit entsprechenden 95%-Vertrauensintervall berechnet.

Um den Substanzabtrag zu bestimmen, wurden die einzelnen Messwerte pro Zahn und Remineralisierungszeit gemittelt, so dass ein repräsentativer Wert pro Zahn und Zeitpunkt entstand. Da für die weitere Datenanalyse normale ANOVA (aufgrund der abhängigen Datenstruktur „Speichel und Zahn“) oder Repeated Measures ANOVA (infolge fehlender Messwerte) nicht anwendbar waren, wurde die Prüfung der Unterschiede zwischen den Gruppen mittels GEE (Generalised Estimated Equations) durchgeführt, um den Abhängigkeiten, die durch die Behandlung von Proben zweier Zähne durch den Speichel eines Spenders entstanden, gerecht zu werden. Diese Analyse wurde sowohl für die durch Härtemessung als auch durch Profilometrie erworbenen Daten durchgeführt. Auf dem GEE Modell wurden anschliessend Least Square Means gerechnet, die Schätzungen für den Abrieb bei verschiedenen Lagerungszeiten im Speichel inklusive Konfidenzintervall (95%) lieferten. Unterschiede mit einem p-Wert ≤ 0.05 wurden als statistisch signifikant gewertet.

Es wurden das Statistik Programm R (R Core Team 2015) sowie für die GEE Berechnung das Statistik Paket „geepack“ (Højsgaard et al 2006; Yan 2002) verwendet.

4 Resultate

4.1 Härte der Proben

Die errechneten Mittelwerte (MW) der Basishärte, der Härte nach Erosion und nach Abrasion sind mit den jeweiligen Standardabweichungen (SD) in Tabelle 3 dargestellt.

4.1.1 Basishärte

Initial wurden mit dem Knoop-Indenter sechs Eindrücke auf den Schmelzproben gesetzt, deren Länge zur Bestimmung der Basis-Mikrohärte herangezogen wurde. Die Mittelwerte (MW) dieser Basismessungen waren mit einer Durchschnittshärte von 341 in allen Gruppen sehr vergleichbar. Bei Gruppe 1 (Kontrollgruppe) lag die Knoop-Härte bei 336 ± 20 . Gruppe 2 zeigte bei der Basishärte einen Wert von 346 ± 17 , Gruppe 3 lag bei 340 ± 17 und Gruppe 4 bei 341 ± 23 .

4.1.2 Werte nach Erosion

Nach jeweils 2 min Erosion in 1%iger Zitronensäure wurde die Härte erneut berechnet. Auch hier konnten keine grossen Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden. Die Härte aller Proben nahm nach dem Erosionsvorgang ab. Bei Gruppe 1 wurden ein Mittelwert von 298 und eine Standardabweichung von 31 ermittelt. Bei Gruppe 2 lagen die Werte bei 303 ± 19 , bei Gruppe 3 bei 299 ± 20 und bei Gruppe 4 im Bereich von 306 ± 25 .

4.1.3 Werte nach Abrasion

Nach Erosion wurde mittels Bürstmaschine und einem Slurry die Abrasion durchgeführt. Sechs weitere Eindrücke wurden zur Bestimmung der finalen Härte vermessen und gemittelt. Insgesamt haben nach der Abrasion alle Proben an Härte

zugenommen, kamen aber nicht auf die Anfangswerte zurück. Gruppe 1 (Kontrolle), welche direkt nach Erosion abradiert wurde, zeigte einen Mittelwert von 312 ± 29 . Die Knoop-Härte der Gruppe 2 lag nach 30 min Lagerungsdauer in Speichel bei 329 ± 18 . Gruppen 3 und 4 zeigten nach 1 h bzw. 2 h Lagerung in Speichel eine finale Härte von 325 ± 19 und 332 ± 25 .

Lagerungszeit (h)	0		0.5		1		2	
Mittelwert/Standardabw.	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD
Basishärte	336	20	346	17	340	17	341	23
Härte nach Erosion	298	31	303	19	299	20	306	25
Härte nach Abrasion	312	29	329	18	325	19	332	25

Tabelle 3: Mittelwerte (MW) mit Standardabweichungen (SD) der erfassten Mikrohärten (Basishärte sowie Härte nach Erosion und Abrasion) eingeteilt nach Lagerungszeit im Speichel (0, 0.5, 1 bzw. 2 h).

4.2 Substanzverlust

4.2.1 Mittels Härtemessung erfasster Substanzverlust

Aus der Länge der Eindrücke konnte jeweils die maximale Tiefe berechnet werden. Die nach der Erosion gesetzten Eindrücke wurden im erweichten Schmelz abradiert und erneut gemessen. Die Tiefendifferenz des Erosionseindrucks vor und nach Abrasion ergab den Wert für den Substanzverlust. In Tabelle 4 sind die Mittelwerte (Ismean), die Standardfehler (SE) des Mittelwertes sowie Konfidenzintervalle (UKI/OKI) der berechneten Substanzverluste aus den Knoop-Eindrücken dargestellt. Der mittlere Substanzverlust lag bei der Gruppe 1 bei $198 \text{ nm} \pm 19 \text{ nm}$. Bei den Gruppen 2, 3 und 4 wurde ein Abtrag von $110 \text{ nm} \pm 10 \text{ nm}$, $114 \text{ nm} \pm 11 \text{ nm}$ und $105 \text{ nm} \pm 14 \text{ nm}$ erfasst. Der Substanzverlust bei der Gruppe 1 war signifikant höher ($p \leq 0.05$), als bei den anderen Gruppen, welche sich untereinander nicht signifikant unterschieden (S).

Lagerungszeit (h)	Ismean	SE	UKI	OKI	S
0	198	19	160	235	B
0.5	110	10	90	130	A
1	114	11	92	137	A
2	105	14	78	131	A

**Tabelle 4: Mittelwerte (Ismean), Standardfehler (SE), unteres (UKI) und oberes Konfidenzintervall (OKI) in Bezug auf die Lagerungszeit.
Gleicher Buchstabe = Kein signifikanter Unterschied zwischen jeweiligen Gruppen.
Unterschiedlicher Buchstabe = Signifikanter Unterschied zwischen jeweiligen Gruppen.**

Abbildung 3 visualisiert den durch den Knoop-Diamant-Eindruck gemessenen Substanzabtrag in Abhängigkeit von der Lagerungszeit in Speichel pro Probe und Zahn, gruppiert nach Speichelspender. Dabei zeigte sich eine beträchtliche Variabilität der Daten, obschon die beiden Kurven innerhalb eines Spenders eine ähnliche Tendenz aufwiesen.

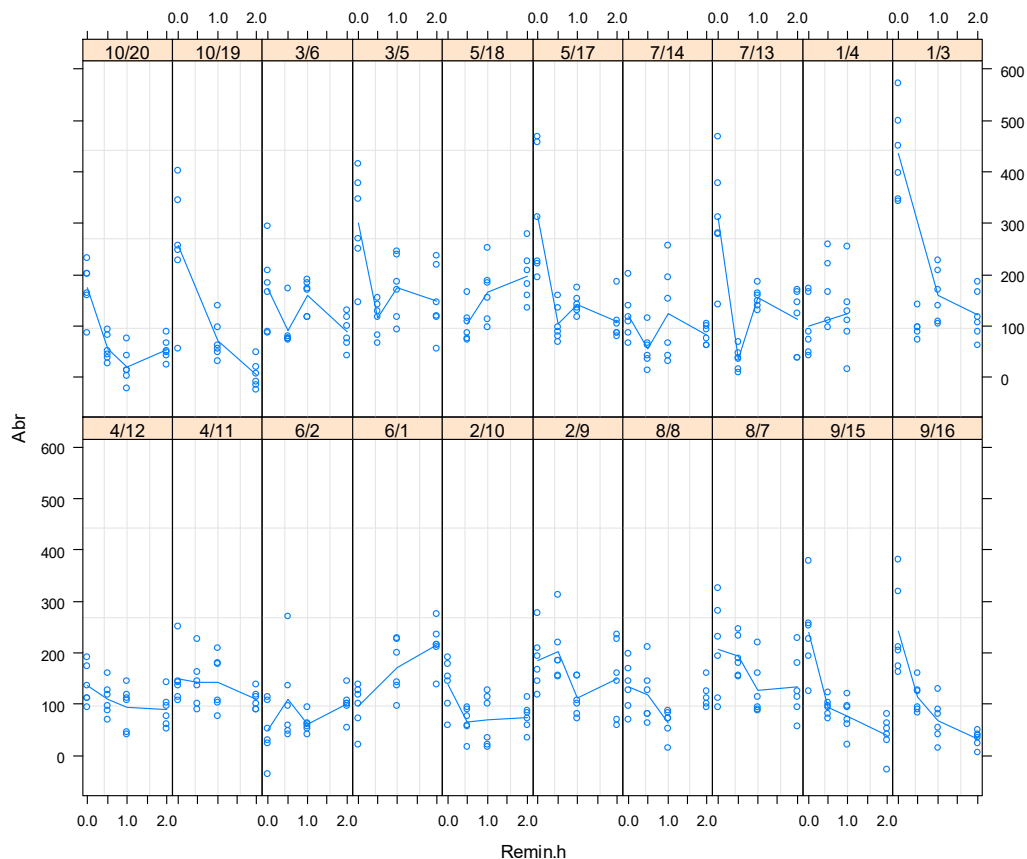


Abbildung 3: Daten nach Remineralisierungszeit (Remin.h) und Knoop-Diamant-Eindruck gemessenem Abrieb (Abr) in nm, gruppiert in „Probe/Zahn“ bezüglich einem Speichelspender (gelber Balken; links Nummer des Speichelspenders/rechts Nummer der Schmelzprobe).

In der Abbildung 4 sind die gemittelten Daten zweier Proben, welche mit dem Speichel von einem Spender behandelt wurden, dargestellt. Damit wird gezeigt, dass es zwischen Proben, welche mit dem Speichel unterschiedlicher Speichelspender behandelt wurden, eine grosse Variabilität gab.

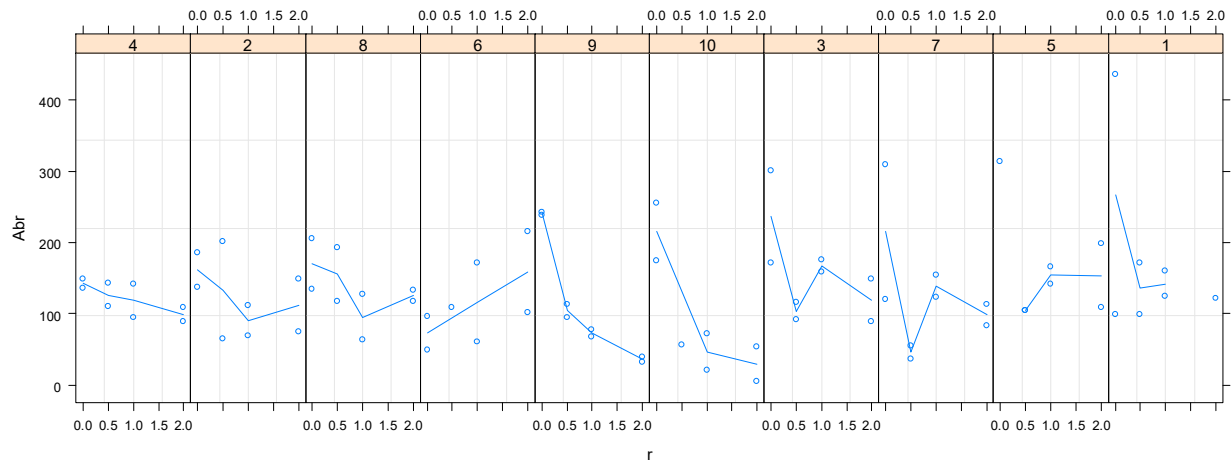


Abbildung 4: Gemittelte Messwerte nach Remineralisierungszeit (r), gemessenem Abrieb (Abr) in nm, eingeteilt pro Speichelspender (gelber Balken).

4.2.3 Mittels Profilometrie erfasster Substanzverlust

Die Tiefendifferenz wurde durch Kontaktprofilometrie ermittelt, indem die Differenz der Profile vor Erosion und nach Abrasion errechnet wurde. In der Tabelle 5 sind die mittleren Substanzverluste (I_{mean}) inklusive Standardfehler (SE) und Konfidenzintervalle (UKI/OKI) dieser Messungen festgehalten. Die Werte der Gruppe 1 (Kontrolle) lagen dabei bei $122 \text{ nm} \pm 8 \text{ nm}$. Bei Gruppen 2 und 3 wurde ein mittlerer Substanzverlust von $114 \text{ nm} \pm 9 \text{ nm}$ und $110 \text{ nm} \pm 4 \text{ nm}$ errechnet. Bei Gruppe 4 ergab sich ein mittlerer Wert von $105 \text{ nm} \pm 5 \text{ nm}$.

Hier konnte kein statistisch signifikanter Unterschied (S) zwischen den Gruppen festgestellt werden.

Lagerungszeit (h)	I_{mean}	SE	UKI	OKI	S
0	122	8	106	138	A
0.5	114	9	97	131	A
1	110	4	103	118	A
2	105	5	96	114	A

**Tabelle 5: Mittelwerte (I_{mean}), Standardabweichung (SE), unteres (UKI) und oberes Konfidenzintervall (OKI) in Bezug auf die Lagerungszeit.
Gleicher Buchstabe = Kein signifikanter Unterschied zwischen allen Gruppen.**

Abbildung 5 stellt den profilometrisch erfassten Substanzabtrag in Abhängigkeit von der Lagerungszeit im Speichel pro Probe und Zahn, gruppiert nach Spender, dar. Es zeigte sich auch hier eine beträchtliche Variabilität der Daten mit grossen Streuungen.

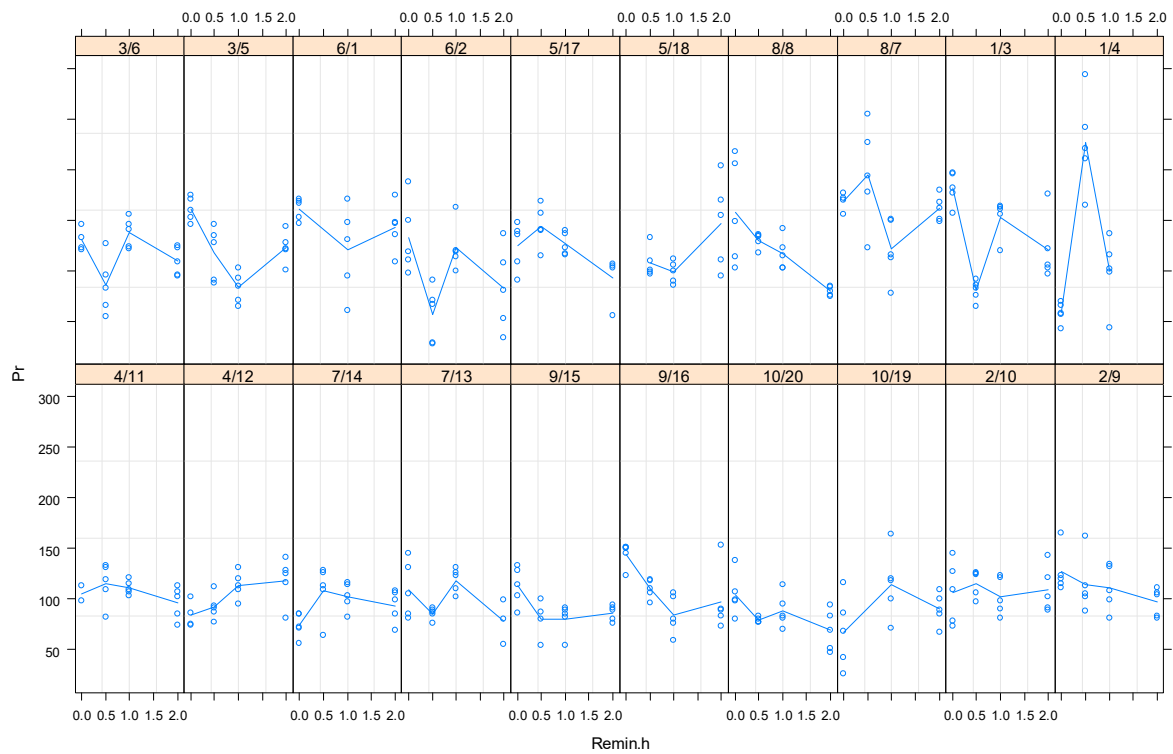


Abbildung 5: Daten nach Remineralisierungszeit (Remin.h) und Profildifferenz gemessenen Profildifferenz (Pr) in nm, gruppiert in „Probe/Zahn“ bezüglich einem Speichelspender (gelber Balken; links Nummer des Speichelspenders/rechts Nummer der Schmelzprobe)

Die gemittelten Daten zweier Proben, welche im Speichel von einem Probanden gelagert wurden, sind in Abbildung 6 aufgezeigt. Auch hier zeigt sich eine beträchtliche Variabilität zwischen den Proben, welche mit dem Speichel verschiedener Speichelspender behandelt wurden.

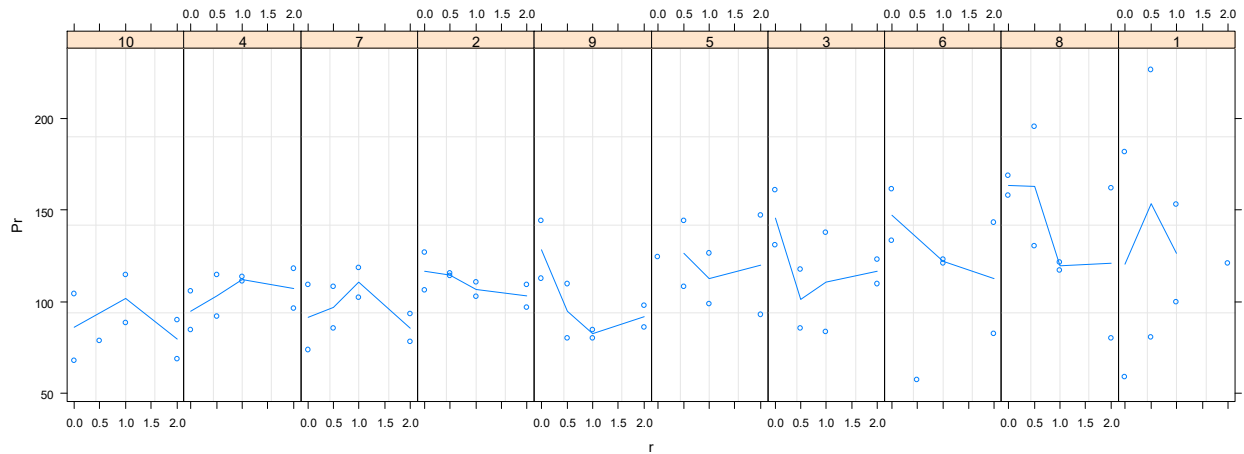


Abbildung 6: Gemittelte Messwerte nach Remineralisierungszeit (r), gemessener Profildifferenz (Pr) in nm, eingeteilt pro Speichelspender (gelber Balken).

4.3 Vergleich der Messmethoden

Ein Vergleich der beiden Messmethoden (Knoop-Diamant-Eindruck und Profilometrie) ist schwierig, wie in Abbildungen 7 und 8 grafisch dargestellt wird. Abbildung 7 veranschaulicht in einem Boxplot den Mittelwert aller Substanzverluste, die mit der Knoop-Diamanteindruck-Methode berechnet wurden, welcher $132 \text{ nm} \pm 88 \text{ nm}$ betrug. Über die Profilometrie wurde ein Wert von $113 \text{ nm} \pm 31 \text{ nm}$ erfasst.

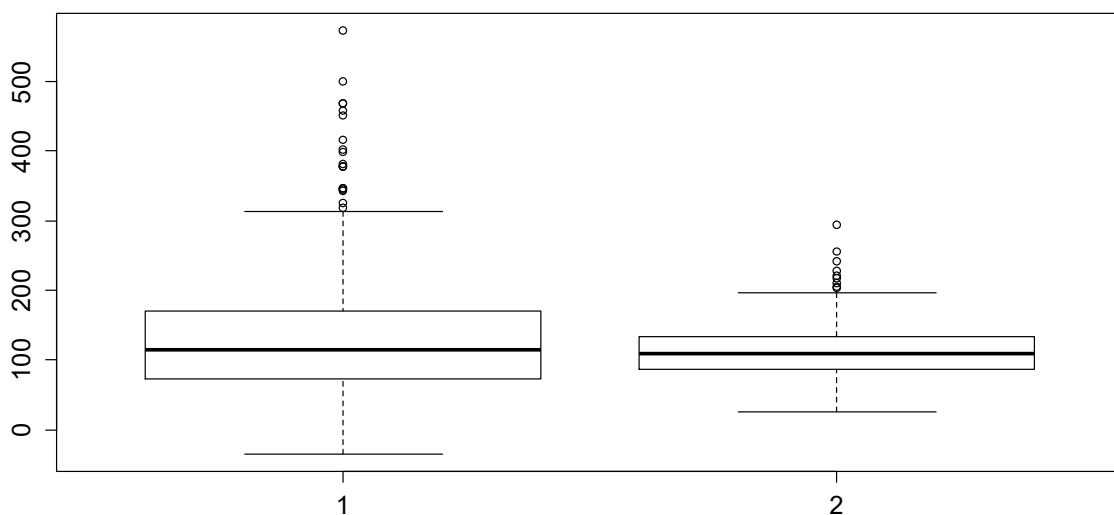


Abbildung 7: Boxplot zur Veranschaulichung der mittels Härtemessung (1) und Profilometrie (2) aufgenommenen Mittelwerte aller Substanzverluste.

In Abbildung 8 wird die grosse Diskrepanz zwischen den beiden Messmethoden veranschaulicht. Jeder Punkt entspricht dabei einem Messwert. Würden beide Methoden dasselbe messen, würden ihre Daten entlang der 1:1-Linie (rot gestrichelt) streuen.

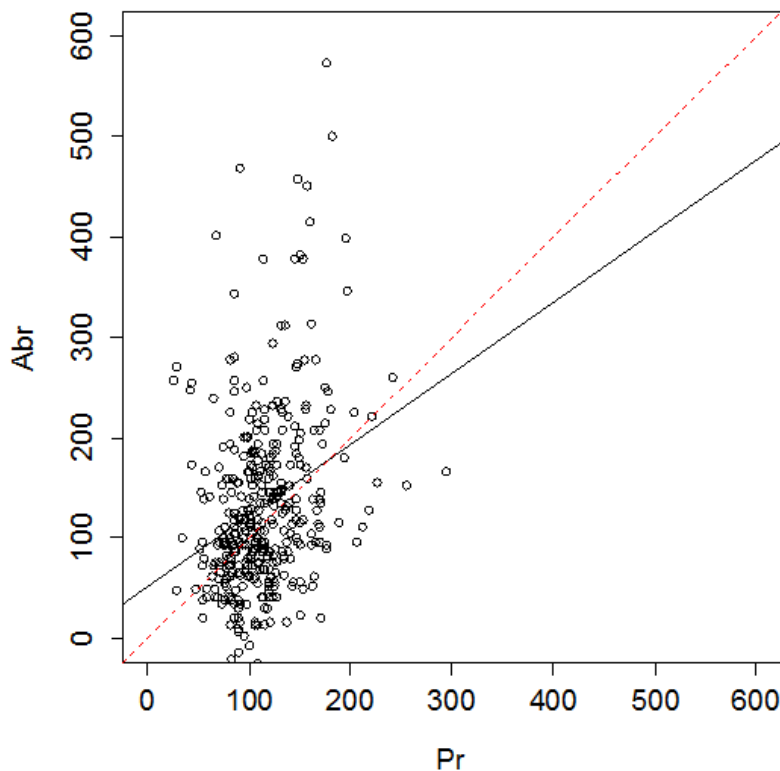


Abbildung 8: Die Messmethoden Knoop-Diamant-Eindruck (Abr) und Profilometrie (Pr) im Vergleich.

Die Intra-Klassen-Korrelation für die Inter-Rater-Reliabilität zwischen den beiden Messmethoden, also jener Teil der Varianz, der nicht durch systematische oder zufällige Messfehler beeinflusst ist, betrug 0.212 (CI: 0.1-0.3).

Abbildung 9 veranschaulicht grafisch über ein Bland-Altman-Diagramm (Differenzen der Messungen gegen deren Mittelwerte geplottet), dass die zwei Methoden Unterschiedliches massen. Der systematische Fehler zwischen den zwei Methoden lag bei ca. 10-30 Messeinheiten. Der zufällige Fehler war gross (ca. ± 150 Messeinheiten) und hing zudem noch von den Messwerten selbst ab.

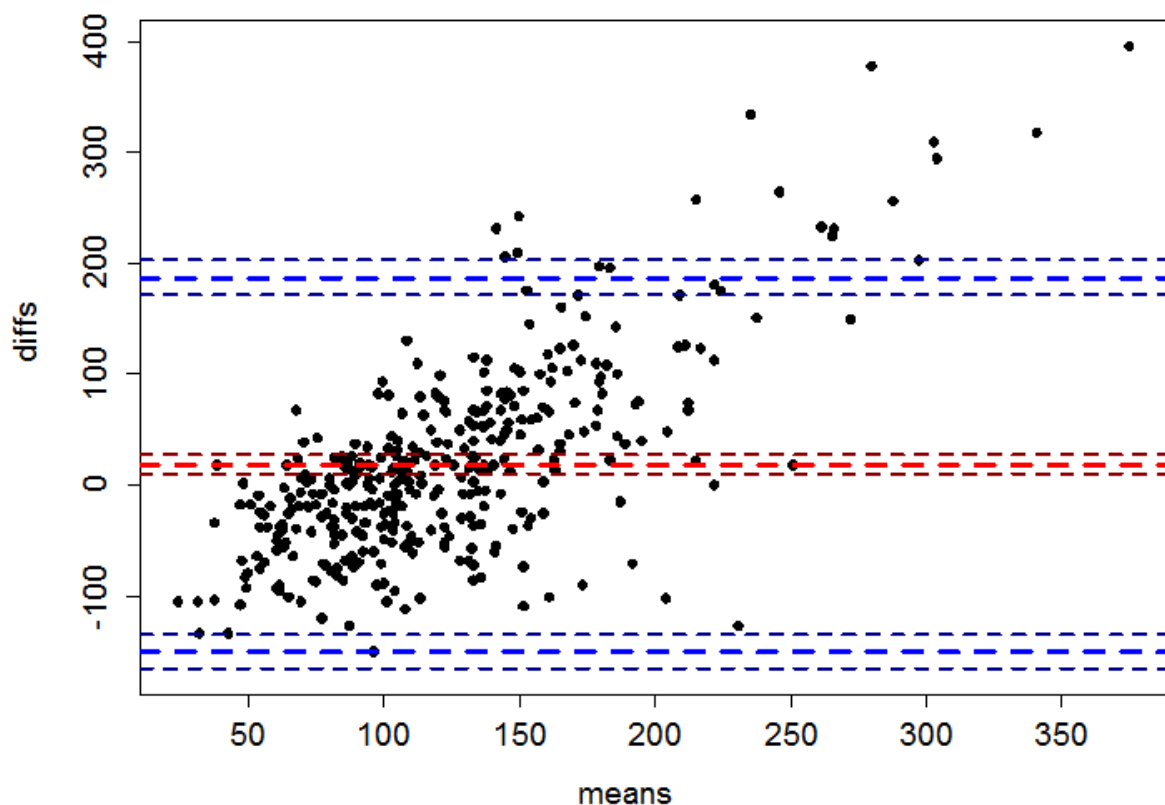


Abbildung 9: Bland-Altman-Diagramm als Darstellung der Differenzen (diffs) der Messungen gegen deren Mittelwerte (means) geplottet.

5 Diskussion

5.1 Diskussion der Methode

In der vorliegenden Studie wurden bovine Unterkieferfrontzähne verwendet. Dies hatte mehrere Gründe. Humane und bovine Zähne weisen ähnliche chemische und physikalische Eigenschaften auf (Imfeld 2001). Die Verfügbarkeit unversehrter Rinder-Frontzähne ist grösser als bei menschlichen Zähnen, bei gleichzeitig grösserer vorhandener Oberfläche. Letzteres hat den Vorteil, dass aus einem Zahn mehrere Proben hergestellt und somit möglichst ähnliche Voraussetzungen für die Versuche geschaffen werden können (Wiegand und Attin 2011). Darüber hinaus weisen Rinderzähne keine kariösen Läsionen oder andere Defekte am Zahnschmelz auf, welche die Experimente beeinflussen könnten (Mellberg, JR 1992). Aus diesen Gründen hat sich der Einsatz boviner Zahnschmelzproben als Ersatz für humanen Zahnschmelz in diversen Erosionsstudien bewährt (Meurman und Frank 1991; Meurman und Murtomaa 1986; Yassen et al. 2011; Nakamura et al. 2015; Attin et al. 2005). Dennoch bestehen erwähnenswerte Unterschiede: Beim Rinderschmelz sind bezüglich der Vickershärte und der Dichte höhere Werte zu verzeichnen als bei humanem Schmelz. Ebenfalls weist er eine höhere Bruchfestigkeit auf (Esser et al. 1998). Mikroskopisch wurde ein höherer durchschnittlicher Durchmesser der Schmelzkristalle festgestellt. (Arends und Jongebloed 1978). Meurman und Frank (1991) erkannten allerdings nach bis zu 180 minütiger Erosion keine Unterschiede in der Oberflächenstruktur boviner und humaner Proben. Attin et al. (2007) konnten eine geringere Widerstandsfähigkeit von bovinem Schmelz gegenüber Erosion bzw. Erosion mit anschliessender Abrasion zeigen. Der Substanzabtrag durch Bürsten nach Erosion ist bei bovinem Schmelz in vitro (Attin et al. 2007) wie auch in situ (Rios et al. 2006) höher als bei humanem Zahnschmelz. Dies muss bei Erosionsversuchen mit bovinen Zähnen sicherlich berücksichtigt werden. Insgesamt lässt sich aber

festhalten, dass sich bovine Zähne als Substitut für humane Zähne eignen (Attin et al. 2007; Esser et al. 1998).

Da die mechanischen Eigenschaften von Rinderschmelzproben natürlichen Schwankungen unterliegen, wurde aus jedem Zahn je eine Probe in die Gruppen 1 bis 4 verteilt. So sollten die Proben mit ihren spezifischen mechanischen Eigenschaften schon initial in allen Gruppen gleichmässig vertreten sein.

Alle Proben wurden mit aufsteigender Feinheit geschliffen und poliert. Dies wurde durchgeführt, um standardisierte Messbedingungen zu schaffen (Attin et al. 2007) und zu genaueren Resultaten bei der Erfassung der Mikrohärtigkeit (Shellis et al. 2011) zu verhelfen, da hierdurch gut definierte Eindrücke entstanden (Attin und Wegehaupt 2014).

Zähne sind täglich mehreren erosiven Angriffen ausgesetzt, beispielsweise durch säurehaltige Getränke (Bashir und Lagerlof 1996). In der vorliegenden Studie wurde dafür stellvertretend 1%ige Zitronensäure (47.6 mmol/l) mit pH = 3.6 eingesetzt und die Proben direkt in die Säure platziert. Da dies eine In-vitro-Untersuchung war, konnten versuchsbeeinflussende biologische Faktoren wie die Verdünnung der Säure durch Speichel und die Bildung einer Pellikel nicht komplett imitiert werden. Dies könnte zu höherem Substanzverlust geführt haben, als es unter In-vivo-Bedingungen zu erwarten gewesen wäre.

Die Erosionszeit wurde auf 2 min festgelegt, da die Erosionen möglichst den natürlichen Säurekontakt beim Trinken simulieren sollten. In früheren Studien mit ähnlicher Fragestellung wurden die Schmelzproben 2 bis 3 min einer Säure ausgesetzt (Attin et al. 2009; Attin et al. 2000; Attin et al. 2001; Lussi et al. 2014; Jaeggi und Lussi 1999; Cheaib und Lussi 2011), wobei auch Studien mit deutlich höheren Erosionszeiten vorliegen (Wiegand und Attin 2011; Lussi et al. 1995; Ganss et al. 2007). Attin et al. (2004) demonstrierten in einem Testversuch, dass beim

zügigen Trinken eines 330 ml erosiven Getränks der Säurekontakt ca. 90 s in Anspruch nimmt. Shellis et al. (2011) beschrieben keine absolute Definition der optimalen Erosionsdauer, allerdings überschreite ein In-vivo-Vorgang nicht den Zeitraum weniger Minuten, was in dieser Studie respektiert wurde. Der Erosionsvorgang sowie die Lagerung in Speichel fanden in einem auf 37 °C temperierten Wasserbad statt, um möglichst realitätsnahe Bedingungen zu schaffen (Shellis et al. 2011).

Bei In-vitro-Studien wie dieser ist es von Vorteil, humanen Speichel zu verwenden, da die Art des verwendeten Speichels - also human versus künstlich - einen Einfluss auf die Ergebnisse haben kann. In einer Studie von Hara et al. (2008) zeigten Schmelzproben, welche in künstlichem Speichel gelagert wurden, geringere Substanzverlustwerte als jene, die in humanem Speichel gelagert wurden. In diesem Zusammenhang muss jedoch beachtet werden, dass sich die Zusammensetzung des Speichels je nach Art und Dauer der Stimulation und Tageszeit verändern kann (Shellis et al. 2011), ein Problem, welches mit künstlichem Speichel nicht auftreten würde.

In dieser Untersuchung wurden Schmelzproben mit einer Oberfläche von ca. 7 mm² verwendet. Diese wurden - je nach Gruppe - für maximal 2 h in 1 ml Speichel eingelegt. In Gruppe 4 wurde der Speichel nach 1 h erneuert. Bei einem stimulierten Speichelfluss von 120 ml/h entspricht dies 0.8% der Speichelmenge. Da die gesamte Zahnoberfläche im Mund deutlich mehr als 840 mm² beträgt, kann davon ausgegangen werden, dass die Speichelmenge pro Schmelzprobe mindestens den Verhältnissen in vivo entsprach. Durch die konstante Bewegung wurden die Speichelbestandteile, insbesondere die Mineralien, an die Schmelzoberfläche gebracht, sodass diese für eine eventuelle Remineralisierung während der gesamten Versuchszeit zur Verfügung standen.

Bei der vorliegenden Studie wurden vor dem Abrasionsvorgang Lagerungszeiten von 0, 0.5, 1 bzw. 2 h in Speichel gewählt, da eine gewisse Latenzzeit zwischen dem Konsum eines erosiven Getränks und Zähneputzen am ehesten die Realität widerspiegelt. Attin et al. (2004; 2001; 2000) zeigten in vorangehenden Studien, dass eine Wartezeit von 30 min bei erodiertem Dentin nach einem Säureangriff nötig ist, um die ursprüngliche Abrasionsresistenz zu erlangen. Beim Schmelz hingegen stieg die Abrasionsresistenz kontinuierlich mit der Remineralisationszeit, ohne zu einer vollständigen Wiedererhärtung der Oberfläche zu führen.

Die Abrasion erfolgte mittels Bürstmaschine mit einer eingespannten Handzahnbürste. Das erlaubte, diesen Vorgang im Gegensatz zu In-vivo-Studien, standardisiert durchzuführen. Die Bürstkraft, die Anzahl der Bürststriche, die Dauer und die Art der Zahnbürste konnten so kontrolliert werden (Shellis et al. 2011). Das Auflagegewicht entsprach 200 g bzw. die Bürstkraft 1.96 N. In ähnlichen Studien wurden Kräfte von 2 bis 3 N verwendet (Wiegand und Attin 2011). Dies entspricht den klinischen Bürstkräften, welche durchschnittlich während des Zähneputzens ausgeübt werden (Ganss et al. 2009).

Es ist bekannt, dass die Zahnbürste, sowie die ausgeübte Auflagekraft die Abrasion beeinflussen (Wiegand et al. 2008), jedoch die Zahnpasta einen viel entscheidenderen Einfluss auf den Substanzabtrag hat (Wiegand et al. 2008; Wiegand et al. 2009). In der vorliegenden Studie wurde die fluoridhaltige Zahnpasta Elmex rot® verwendet, eine weit verbreitete Standardzahnpasta.

Die Knoop-Härte und der Substanzabtrag wurden mittels eines Härtemessgerätes erfasst. Diese Methode erlaubt die Ermittlung des Substanzverlustes von erodiertem Schmelz nach Abrasion durch Messung der Eindringtiefe vor und nach der Abrasion (Jaeggi und Lussi 1999) bis auf 30 bis 100 nm (Lussi et al. 2004a). Durch erosive Vorgänge verändern sich jedoch die ursprünglich polierte Schmelz-Oberfläche und

damit die Lichtreflektion bei der mikroskopischen Vermessung. Die Ränder der Eindrücke erscheinen damit unscharf und können so eine exakte Messung erschweren (Attin und Wegehaupt 2014).

Als zweite Messtechnik wurde die Oberflächen-Profilometrie herangezogen, welche ebenfalls eine vielfach angewandte Technik zur Bestimmung des Zahnhartsubstanzverlustes darstellt (Brunton et al. 2000; Bueno et al. 2010; Eisenburger und Addy 2003). Die Erfassung der Oberflächenstruktur erfolgt bei dieser Methode mittels eines mechanischen Tasters (Attin et al. 1997; Ganss et al. 2000). In der vorliegenden Studie wurden die Oberflächenprofile vor Versuchsbeginn und am Ende der Versuchsreihe aufgenommen. Durch vorgefertigte Einkerbungen im Kunststoff konnten die Schmelzproben nach Abschluss der Erosions- bzw. Abrasionsvorgänge exakt reponiert werden, was das Übereinanderlegen der Messkurven ermöglichte. Aus der Höhendifferenz eines Profilpaares wurde der Substanzabtrag errechnet.

5.2 Diskussion der Ergebnisse

Ziel der vorliegenden Studie war es, mittels zwei verschiedener Messmethoden festzustellen, ob die Abrasionsresistenz von Schmelzproben nach einem Säureangriff durch Lagerung von bis zu zwei Stunden in humanem Speichel erhöht wird. Hierfür wurde von allen Proben vor Beginn der Versuche die Basishärte bestimmt. Die Mittelwerte (MW) dieser Basismessungen waren mit einer Durchschnittshärte von 340.7 in allen Gruppen gut vergleichbar. Auch nach der Erosion konnten zwischen den Gruppen bezüglich der Mikrohärtigkeit keine grossen Unterschiede festgestellt werden. Damit kann von einer homogenen Ausgangslage für die weiteren Experimente ausgegangen werden.

Nach Inkubation in Speichel und dem Abrasionsvorgang zeigte sich jedoch bezüglich des Abtrags eine erhebliche Streuung der Daten, und zwar unabhängig davon, ob diese mittels Profilometrie oder Härtemessgerät erfasst wurden. Insbesondere der Vergleich der Proben nach Speichelspender (Abbildungen 3-6) sticht hervor. Dem individuellen Speichelspender bzw. dem verwendeten Speichel, dürfte demnach eine wichtige Rolle im Schutz vor abrasivem Substanzabtrag nach Erosion zukommen.

Aufgrund des erheblichen zeitlichen und organisatorischen Aufwands für die Studie wurden nur zehn Probanden in die Studie inkludiert. Es wurden jedoch, um die Probenzahl zu vergrössern, jedem Speichelspender zwei Zähne und damit zwei Proben pro Gruppe zugeordnet. Möglicherweise hätte eine Steigerung der Probandenzahl zu aussagekräftigeren Resultaten geführt.

Die Messungen bezüglich des Substanzverlustes zeigten je nach Messmethode unterschiedliche Ergebnisse. Es stellte sich heraus, dass sich die mittels Härtemessgerät und Profilometrie erfassten Werte zur Bestimmung des Substanzverlustes einer erodierten Schmelzprobe nach erfolgter Abrasion nicht direkt vergleichen liessen. Die Gruppen 2 bis 4, wenn mit dem Härtemessgerät untersucht, wiesen einen signifikant geringeren Substanzverlust im Vergleich zur Kontrollgruppe (Gruppe 1) auf. Beim Vermessen derselben Proben mit Profilometrie konnte dieser signifikante Unterschied zwischen den Gruppen 1 bis 4 nicht bestätigt werden. Hier wurde mit längerer Lagerungszeit im Speichel lediglich tendenziell weniger Substanzabtrag gefunden.

Eine gewisse Widersprüchlichkeit spiegelt sich auch in der Literatur wieder: Attin et al. (2000) zeigten mittels profilometrischer Datenerfassung, dass die Abrasionsresistenz von erodiertem Zahnschmelz mit der Lagerungsdauer in Speichel kontinuierlich ansteigt. Bereits nach 10 min liess sich eine deutliche Abrasionsresistenz (52%) feststellen. Dennoch war auch nach 1 h Remineralisation

immer noch ein erhöhter Substanzverlust zu verzeichnen. Ähnlich stellten sich die Resultate nach maximal 2 h Lagerung in einer Studie von Ganss et al. (2007) dar.

In einer anderen Untersuchung, welche mittels Härtemessgerät durchgeführt wurde (Lussi et al. 2014), konnte auch mit bis zu 4 h Inkubationszeit keine erhöhte Mikrohärtigkeit bzw. Abrasionsresistenz festgestellt werden. Die Widersprüchlichkeit der zitierten Studien liegt möglicherweise darin, dass die jeweiligen Versuchsbedingungen unterschiedlich waren: Die Durchführung von In-vitro- bzw. In-situ-Versuchen, die Verwendung von humanen bzw. bovinen Schmelzproben, die Wahl von künstlichem bzw. humanem Speichel, die Verwendung von gepooltem Speichel oder individuellen Speichelproben, die Dauer der erosiven Behandlung, und das Verwenden unterschiedlicher Abrasionsmittel haben offensichtlich einen Einfluss auf die Ergebnisse.

Im Fokus der vorliegenden Studie stand auch der Vergleich der beiden Messmethoden. Zur Erfassung des Substanzverlustes mittels Profilometrie wurde vor Erosion auf jeder Probe die Oberflächentopographie von fünf Parallelen im Abstand von 0.25 mm gemessen und gespeichert (Abbildung 2). Nach der Erosion und Abrasion wurden die Proben an denselben Positionen abgetastet, und die Differenzen zur Basismessung Punkt für Punkt berechnet. Da die Referenzbereiche auf den Proben während der Erosion abgedeckt waren, konnten die Profile so übereinander gelegt werden, dass die Differenz der Referenzbereiche auf der Nulllinie lagen. Im mittleren Bereich der erodierten und abradierten Fläche wurde die Tiefendifferenz für 0.5 - 1 mm Breite als repräsentativer Abtrag berechnet. Dieser Bereich variierte, da beim Abkleben der Referenzflächen nicht immer exakt die gleiche Breite der Erosionsfläche eingehalten wurde. Für die Bewertung der Erosion und Abrasion in der Probenmitte ist die variierende Breite jedoch nicht von tragender Bedeutung.

Die Auflösung des Profilometrietasters betrug 8 nm/Bit der digitalisierten Messwerte. Das Rauschen des Messgerätes liegt damit bei ± 8 nm. Nimmt man als untere Messgrenze das Dreifache des Rauschens an, so erhält man die ± 24 nm als Limit der profilometrischen Messungen, welche zwischen 105 ± 33 nm und 122 ± 41 nm lagen.

Zur Erfassung des Substanzverlustes mittels Härtemessung wurde die Länge der Eindrücke des Knoop-Diamanten mikroskopisch mit dem Objektiv 50x (NA 0.75) gemessen, dessen optische Auflösung laut Herstellerangaben bei 366 nm liegt (Härtemessgerät, Walter Uhl, technische Mikroskopie, Asslar, Deutschland). An beiden Seiten der sichtbaren Raute wurde der Endpunkt für jede Messung manuell festgelegt. Da jeder dieser Punkte dadurch mit einer Genauigkeit von ± 366 nm ermittelt wurde, ergab sich für die Länge der Diagonale eine Messunsicherheit von ± 732 nm, was einer Tiefe von ± 24 nm entspricht. Diese Messunsicherheit besteht bei ideal polierten Flächen, vergrößert sich jedoch bei der Untersuchung von abradieren Eindrücken in erodiertem Schmelz. Hier sind die Eindrücke in unterschiedlichem Masse unschärfer, so dass die genaue Messunsicherheit nicht angegeben werden kann.

In einem Nachversuch wurde bei 71 von 80 Proben (verbleibende Proben für weitere Nachtests verwendet) exemplarisch eine zweite Abrasion mit einer stark abrasiven Zahnpasta (Colgate Sensitive Zahnpasta®, Therwil, Schweiz) durchgeführt. Damit sollte ermittelt werden, wie viel erweichte Substanz sich noch nach der ersten Abrasion, mit der relativ gering abrasiven Zahnpasta (Elmex rot®), weiterhin auf dem nativen Schmelz befand.

Profilometrisch betrug diese Dicke der sogenannten gesamten erodierten Schicht, erfasst als Differenz der Profile zwischen zweiter Abrasion und Basismessung, über

alle Proben 344 nm (332 ± 147 nm bis 381 ± 177 nm). Das bedeutet, dass mit dem beschriebenen Hauptversuch nur 1/4 bis 1/3 der erodierten Schicht betrachtet wurde. Bei der Erfassung der Dicke der gesamten erodierten Schicht mittels Härtemessung ergab sich als Summe beider Abrasionen ein durchschnittlicher Abtrag von 431 nm. Dies wurde wie folgt ermittelt: Die Eindrücke, die nach der Erosion gesetzt wurden, waren im Mittel 1644 nm tief. Nach der Abrasion erschienen die Eindrücke im Mittel 104 - 198 nm weniger tief. Die zweite Abrasion zur Messung der gesamten erodierten Schichttiefe trug von den neuen Indentationen weitere 221 - 338 nm ab. Dieser Wert weicht vom Ergebnis der Profilometrie ab. Man muss davon ausgehen, dass die Profiltiefe nach der ersten Abrasion mit noch einer erheblichen, erweichten Schmelzschicht an der Oberfläche etwas zu tief gemessen wurde. Obwohl sich der Taster mit nur geringem Auflagegewicht über die Fläche bewegt, kann er dabei in Abhängigkeit von der Härte etwas in die Oberfläche eindringen, was tendenziell zu Überschätzung der wahren Profildifferenz führen kann.

Die Härtemessung nach der zweiten Abrasion zeigte, dass mit dieser die native Schmelzschicht mit ihrer ursprünglichen Härte wieder erreicht wurde. Es ergab sich eine Diskrepanz zwischen der profilometrisch gemessenen Erosionstiefe von 344 nm und der aus den Indentionslängen berechneten Schicht von 431 nm. Mit dem Profilometer wurden die Oberflächen vor den Versuchen und nach dem Entfernen aller erodierten Substanz verglichen. Diese direkten Messwerte sind sehr zuverlässig. Eine systematische Abweichung von ca. 75 nm von den wahren Differenzen ist eher unwahrscheinlich.

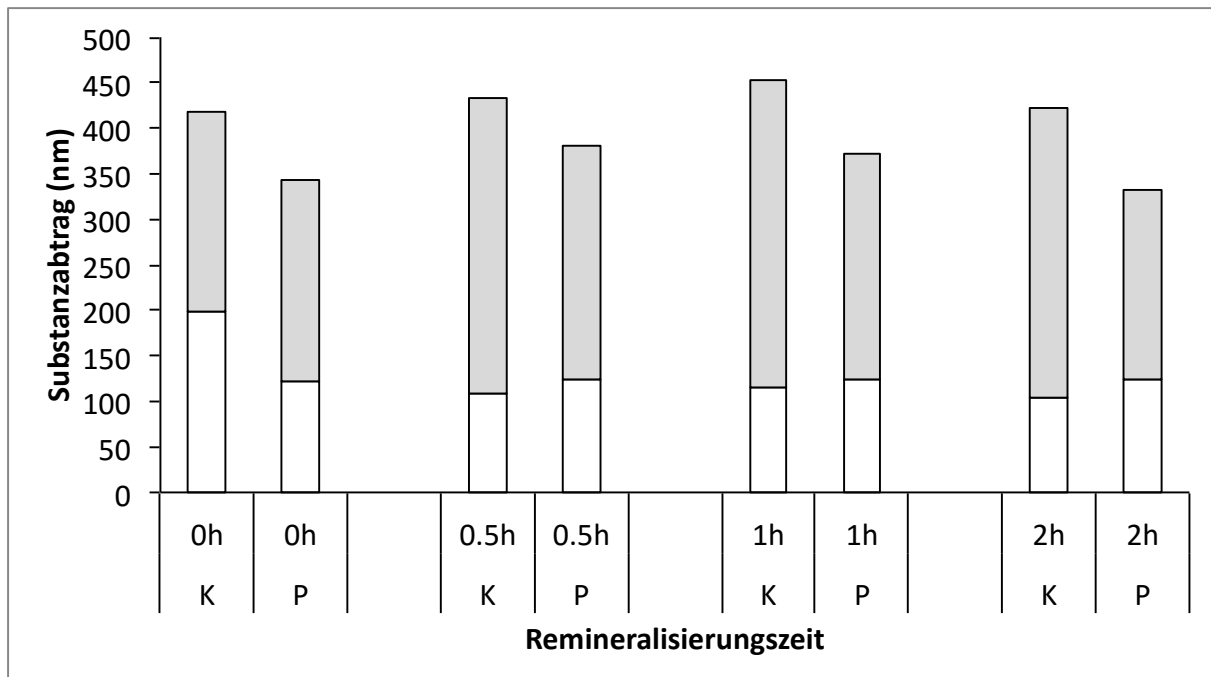


Abbildung 10: Anteiliger Substanzabtrag. Weiss: Abrasion mit 100 Bürststrichen, grau: restliche erweichte Schicht; Messung über Knoop-Eindrücke (K) und Profilometrie (P).

Möglicherweise entstehen Abweichungen beim Eindrücken des Knoop-Diamanten in eine weiche Oberfläche. Die Härtemessung einer Oberfläche setzt voraus, dass eine homogene Härte im Testkörper vorliegt. Nur wenn diese Homogenität für die gesamte Eindrucktiefe gegeben ist, gilt die von Knoop festgelegte Formel für die Berechnung der Härte. Im Fall der erodierten Schmelzproben ist das jedoch nicht der Fall. Durch die Säure wird im Schmelz Apatit aufgelöst, wodurch der Mineralgehalt bei den vorliegenden Versuchen von der Oberfläche bis in eine Tiefe von ca. 350 nm variiert. Es entsteht ein Härtegradient, wobei die Schicht an der Oberfläche stark und die tieferen Schichten weniger erweicht werden (Wiegand et al. 2007).

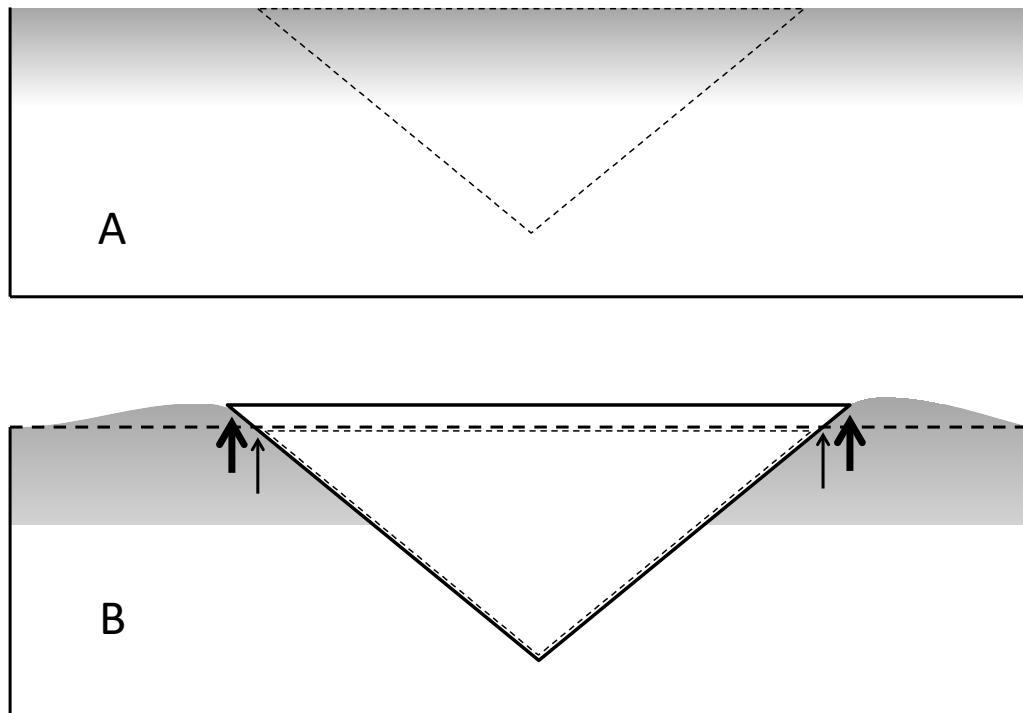


Abbildung 11: Schematische Darstellung eines Knoop-Eindrucks in erweichten Schmelz
(A) Theoretischer Eindruck des Diamanten. Das Material der Oberfläche muss durch den Druck komprimiert oder verdrängt werden.
(B) Durch verdrängtes Material erhöht sich die Oberfläche in der unmittelbaren Umgebung des Indenters. Der Eindruck erscheint grösser.

Der Knoop-Indenter drückt bei einer Gesamttiefe von ca. 1650 nm folglich etwa 1300 nm in den nativen Schmelz homogener Härte und einem konstanten Widerstand ein. Die unterschiedlich erweichte Substanz an der Oberfläche setzt dem Druck einen geringeren Widerstand entgegen. Der Diamant kann hier bei gleicher Kraftapplikation tiefer eindringen. Zusätzlich kann weiches Material besser komprimiert und verdrängt werden, wie in Abbildung 10 schematisch dargestellt ist. Am Rand des Eindrucks häuft sich das vom Indenter verdrängte Material an und kann je nach Menge systematisch als zu grosser Eindruck erscheinen. Bei der folgenden Abrasion werden hierauf auch die Anhäufungen entfernt und gehen mit in die Tiefendifferenz ein. Für den Vergleich der Gruppen untereinander ist das wenig störend, da die Veränderungen zwischen den Remineralisierungszeiten verglichen werden. Wird dieser Vorgang jedoch mit einem neuen Eindruck und anschliessender

Abrasion wiederholt, addieren sich die Abweichungen. Das könnte zu den Differenzen des Substanzverlustes im Vergleich zur Profilometrie geführt haben.

Die mit dem Knoop-Indenter ermittelten Abrasionswerte waren bei der Kontrolle - ohne Lagerung in Speichel - signifikant höher. Die Lagerung in Speichel führte zu einer Reduzierung der abradierbaren Substanz, die jedoch nicht zeitabhängig war. Der nach 0.5 h erreichte Abrasionswert wurde durch die längere Lagerungsdauer im Speichel nicht weiter reduziert, obwohl ausreichend Speichel für den restlichen erweichten Schmelz vorhanden war.

Allgemein wird angenommen, dass eine Remineralisierung zu weniger Substanzverlust durch Abrasion führt. Denkbar ist aber auch, dass der Speichel zu einer Beschichtung der erodierten Fläche führt, die vor Abrasion schützt. Da die Kontrollgruppe keinen Kontakt mit Speichel hatte und folglich keine Beschichtung entstehen konnte, wurde hier allenfalls mehr erodierte Substanz abradiert. Bei den anderen Gruppen käme es zu einer gleichen Beschichtung und damit zu gleichen, geringeren Abträgen.

Die Frage, ob eine zeitabhängige Remineralisierung stattfand, lässt sich mit beiden Messmethoden nicht sicher beantworten. Mit beiden Verfahren wird nur der Substanzabtrag durch eine standardisierte Abrasion festgestellt. Dabei kann nicht unterschieden werden, ob die Härte der erodierten Schmelzoberfläche zugenommen hat oder die Abrasion verändert wurde. Bereits nach 0.5 h Lagerung in Speichel zeigte sich die grösste Abrasionsfestigkeit aber die ursprüngliche Schmelzhärte wurde auch nach 2 h nicht wieder erreicht. Dieses Ergebnis, das zum Teil im Widerspruch mit früheren Studienergebnissen steht, sollte in weiteren Studien geprüft werden.

5.3 Schlussfolgerung

- Es konnte keine vollständige Wiedererhärtung bzw. Remineralisierung des Zahnschmelzes nach einem Säureangriff gefunden werden. Auch nach einer bis zu zweistündigen Inkubation in Speichel wurde die initiale Härte nicht wieder erreicht.
- Ebenfalls zeigte sich auch nach 2 h Lagerung in Speichel keine verbesserte Abrasionsresistenz.
- Die Ergebnisse der untersuchten Messmethoden Härtemessgerät und Profilometrie konnten nicht direkt miteinander verglichen werden.

6 Literaturverzeichnis

Addy M, Hunter ML (2003) Can tooth brushing damage your health? Effects on oral and dental tissues. *International Dental Journal* 53:177-186

Addy M, Shellis RP (2006) Interaction between attrition, abrasion and erosion in tooth wear. *Monographs in Oral Science* 20:17-31

Al-Malik M, Holt R, Bedi R (2002) Erosion, caries and rampant caries in preschool children in Jeddah, Saudi Arabia. *Community Dentistry and Oral Epidemiology* 30:16-23

Amaechi BT, Higham SM (2001) In vitro remineralisation of eroded enamel lesions by saliva. *Journal of Dentistry* 29:371-376

Arends J, Jongebloed WL (1978) Crystallites dimensions of enamel. *Journal de biologie buccale* 6:161-171

Attin T, Becker K, Roos M, Attin R, Paque F (2009) Impact of storage conditions on profilometry of eroded dental hard tissue. *Clinical Oral Investigations* 13:473-478

Attin T, Buchalla W, Gollner M, Hellwig E (2000): Use of variable remineralization periods to improve the abrasion resistance of previously eroded enamel. *Caries Research* 34:48-52

Attin T, Knöfel S, Buchalla W, Tütüncü R (2001) In situ evaluation of different remineralization periods to decrease brushing abrasion of demineralized enamel. *Caries Research* 35:216-222.

Attin T, Koidl U, Buchalla W, Schaller HG, Kielbassa AM, Hellwig E (1997) Correlation of microhardness and wear in differently eroded bovine dental enamel. *Archives of Oral Biology* 42:243-250

Attin T, Siegel S, Buchalla W, Lennon AM, Hannig C, Becker K (2004) Brushing abrasion of softened and remineralised dentin: an in situ study. *Caries Research* 38:62-66

Attin T, Weiss K, Becker K, Buchalla W, Wiegand A (2005) Impact of modified acidic soft drinks on enamel erosion. *Oral Diseases* 11:7-12

Attin T, Wegehaupt F, Gries D, Wiegand A (2007) The potential of deciduous and permanent bovine enamel as substitute for deciduous and permanent human enamel: erosion-abrasion experiments. *Journal of Dentistry* 35:773-777

Attin T, Wegehaupt F (2014) Methods for assessment of dental erosion. *Monographs in Oral Science* 25:123-142

Aykut-Yetkiner A, Wiegand A, Attin T (2014) The effect of saliva substitutes on enamel erosion in vitro. *Journal of Dentistry* 42:720-725

Bartlett D (2005) The role of erosion in tooth wear: aetiology, prevention and management. *International Dental Journal* 55:277-284

Bashir E, Lagerloef F (1996) Effect of citric acid clearance on the saturation with respect to hydroxyapatite in saliva. *Caries Research* 30:213-217

Beyer M, Reichert J, Sigusch B, Watts D, Jandt K (2012) Morphology and structure of polymer layers protecting dental enamel against erosion. *Dental Materials: Official Publication of the Academy of Dental Materials* 28:1089-1097

Brunton PA, Kalsi KS, Watts DC, Wilson NH (2000) Resistance of two dentin-bonding agents and a dentin desensitizer to acid erosion in vitro. *Dental Materials: Official Publication of the Academy of Dental Materials* 16:351-355

Bueno MG, Marsicano JA, Sales-Peres SH (2010) Preventive effect of iron gel with or without fluoride on bovine enamel erosion in vitro. *Australian Dental Journal* 55:177-180

Buzalaf MA, Hannas AR, Kato MT (2012) Saliva and dental erosion. *Journal of Applied Oral Science* 20:493-502

Cheaib Z, Lussi A (2011) Impact of Acquired Enamel Pellicle Modification on Initial Dental Erosion. *Caries Research* 45:107-112

Dababneh RH, Khouri AT, Addy M (1999) Dentine hypersensitivity - an enigma? A review of terminology, mechanisms, aetiology and management. *British Dental Journal* 187:606-611

Eisenburger M, Addy M (2003) Influence of liquid temperature and flow rate on enamel erosion and surface softening. *Journal of Oral Rehabilitation* 30:1076-1080

El Karim IA, Sanhoury NM, Hashim NT, Ziada HM (2007) Dental erosion among 12-14 year old school children in Khartoum: a pilot study. *Community Dental Health* 24:176-180

Esser M, Tinschert J, Marx R (1998) Materialkennwerte der Zahnhartsubstanz des Rindes im Vergleich zur humanen Zahnhartsubstanz. *Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift* 53:713-717

Featherstone JD, Ten Cate JM, Shariati M, Arends J (1983) Comparison of artificial caries-like lesions by quantitative microradiography and microhardness profiles. *Caries Research* 17:385-391

Ganss C, Hardt M, Blazek D, Klimek J, Schlueter N (2009) Effects of toothbrushing force on the mineral content and demineralized organic matrix of eroded dentine. *European Journal of Oral Sciences* 117:255-260

Ganss C, Klimek J, Giese K (2001) Dental erosion in children and adolescents - a cross-sectional and longitudinal investigation using study models. *Community Dentistry and Oral Epidemiology* 29:264-271

Ganss C, Klimek J, Schwarz N (2000) A comparative profilometric in vitro study of the susceptibility of polished and natural human enamel and dentine surfaces to erosive demineralization. *Archives of Oral Biology* 45:897-902

Ganss C, Schlueter N, Friedrich D, Klimek J (2007) Efficacy of waiting periods and topical fluoride treatment on toothbrush abrasion of eroded enamel in situ. *Caries Research* 41:146-151

Ganss C, Klimek J, Borkowski N (2002) Characteristics of tooth wear in relation to different nutritional patterns including contemporary and medieval subjects. *European Journal of Oral Sciences* 110:54-60

Ganss C, Lussi A, Schlueter N (2014a) The histological features and physical properties of eroded dental hard tissues. *Monographs in Oral Science* 25:99-107

Gurgel C, Rios D, Buzalaf M, Afonso R, da Silva SM, Araújo JJ, Pauletto AR, de Andrade MM, Maria A (2011) Dental erosion in a group of 12- and 16-year-old Brazilian schoolchildren. *Pediatric Dentistry* 33:23-28

Hannig C, Becker K, Häusler N, Hoth-Hannig W, Attin T, Hannig M (2007) Protective effect of the in situ pellicle on dentin erosion - an ex vivo pilot study. *Archives of Oral Biology* 52:444-449

Hara AT, González-Cabezas C, Creeth J, Zero D (2008) The effect of human saliva substitutes in an erosion-abrasion cycling model. *European Journal of Oral Sciences* 116:552-556

Højsgaard S, Halekoh U, Yan J (2006) The R Package geepack for Generalized Estimating Equations. *Journal of Statistical Software* 15:1-11

Hou X, Zhang Q, Chen X, Wang J (2009) Prevalence of dental erosion and associated drinks in 12-year-old population of Beijing. *Chinese Journal of Stomatology* 44:208-211

Imfeld T (2001) Comparison of the mechanical effects of a toothbrush and standard abrasive on human and bovine dentine in vitro. *The Journal of Clinical Dentistry* 12:92-96

Jaeggi T, Lussi A (1999) Toothbrush abrasion of erosively altered enamel after intraoral exposure to saliva: an in situ study. *Caries Research* 33:455-461

Jaeggi T, Lussi A (2014) Prevalence, incidence and distribution of erosion. *Monographs in Oral Science* 25:55-73

Johansson AK, Lingström P, Birkhed D (2002) Comparison of factors potentially related to the occurrence of dental erosion in high- and low-erosion groups. *European Journal of Oral Sciences* 110:204-211

Kumar S, Acharya S, Mishra P, Debnath N, Vasthare R (2013) Prevalence and risk factors for dental erosion among 11- to 14-year-old school children in South India. *Journal of Oral Science* 55:329-336

Larsen MJ, Poulsen S, Hansen I (2005) Erosion of the teeth: prevalence and distribution in a group of Danish school children. *European Journal of Paediatric Dentistry* 6:44-47

Lendenmann U, Grogan J, Oppenheim FG (2000) Saliva and dental pellicle - a review. *Advances in Dental Research* 14:22-28

- Levitch LC, Bader JD, Shugars DA, Heymann HO (1994) Non-carious cervical lesions. *Journal of Dentistry* 22:195-207
- Luo Y, Zeng XJ, Du MQ, Bedi R (2005) The prevalence of dental erosion in preschool children in China. *Journal of Dentistry* 33:115-121
- Lussi A, Jaeggi T (2008) Erosion - diagnosis and risk factors. *Clinical Oral Investigations* 12:5-13
- Lussi A, Jaeggi T, Gerber C, Megert B, (2004a) Effect of amine/sodium fluoride rinsing on toothbrush abrasion of softened enamel in situ. *Caries Research* 38:567-571
- Lussi A, Jaeggi T, Jaeggi-Scharer S (1995) Prediction of the erosive potential of some beverages. *Caries Research* 29:349-354
- Lussi A, Jaeggi T, Schaffner M (2002) Diet and dental erosion. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)* 18:780-781
- Lussi A, Jaeggi T, Zero D (2004b) The role of diet in the aetiology of dental erosion. *Caries Research* 38:34-44
- Lussi A, Schaffner M (2000) Progression of and risk factors for dental erosion and wedge-shaped defects over a 6-year period. *Caries Research* 34:182-187
- Lussi A, Ganss C (2014) Erosive tooth wear. From diagnosis to therapy. 2nd, revised and extended edition. Basel, New York: Karger (Monographs in Oral Science, 25)
- Lussi A, Lussi J, Carvalho TS, Cvikl B (2014) Toothbrushing after an erosive attack: will waiting avoid tooth wear. *European journal of oral sciences* 122:353-359
- Lutskaia IK, Zinovenko OG, Kovalenko IP (2015) Epidemiology of teeth hypersensitivity. *Stomatologija* 94:2-15

- Magalhães AC, Wiegand A, Rios D, Honório HM, Buzalaf M, Afonso R (2009) Insights into preventive measures for dental erosion. *Journal of Applied Oral Science* 17:75-86
- Mangueira DF, Sampaio FC, Oliveira AF (2009) Association between socioeconomic factors and dental erosion in Brazilian schoolchildren. *Journal of Public Health Dentistry* 69:254-259
- Mannerberg F (1961) Changes in the enamel surface in cases of erosion. A replica study. *Archives of Oral Biology* 4:59-62
- Mantonanaki M, Koletsi-Kounari H, Mamai-Homata E, Papaioannou W (2013) Dental erosion prevalence and associated risk indicators among preschool children in Athens, Greece. *Clinical Oral Investigations* 17:585-593
- Mellberg JR (1992) Hard-tissue substrates for evaluation of cariogenic and anti-cariogenic activity in situ. *Journal of Dental Research* 71:913-919
- Meurman JH, Drysdale T, Frank RM (1991) Experimental erosion of dentin. *Scandinavian Journal of Dental Research* 99:457-462
- Meurman JH, Frank RM (1991) Progression and surface ultrastructure of in vitro caused erosive lesions in human and bovine enamel. *Caries Research* 25:81-87
- Meurman JH, Murtomaa H (1986) Effect of effervescent vitamin C preparations on bovine teeth and on some clinical and salivary parameters in man. *Scandinavian Journal of Dental Research* 94:491-499
- Millward A, Shaw L, Smith A (1994) Dental erosion in four-year-old children from differing socioeconomic backgrounds. *ASDC Journal of Dentistry for Children* 61:263-266

Milosevic A (1993) Tooth wear: an aetiological and diagnostic problem. *The European Journal of Prosthodontics and Restorative Dentistry* 1:173-178

Mulic A, Tveit AB, Skaare A (2013) Prevalence and severity of dental erosive wear among a group of Norwegian 18-year-olds. *Acta Odontologica Scandinavica* 71:475-481

Nakamura M, Kitasako Y, Nakashima S, Sadr A, Tagami J (2015) Impact of toothpaste on abrasion of sound and eroded enamel: An in vitro white light interferometer study. *American Journal of Dentistry* 28:268-272

R Core Team (2015) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

Rios D, Honorio HM, Magalhaes AC, Delbem AC, Machado MA, Silva SM, Buzalaf M (2006) Effect of salivary stimulation on erosion of human and bovine enamel subjected or not to subsequent abrasion: an in situ/ex vivo study. *Caries Research* 40:218-223

Rogers GM, Poore MH, Ferko BL, Kusy RP, Deaton TG, Bawden JW (1997) In vitro effects of an acidic by-product feed on bovine teeth. *American Journal of Veterinary Research* 58:498–503

Scheutzel P (1996) Etiology of dental erosion - intrinsic factors. *European Journal of oral Sciences* 104:178-190

Shellis RP, Ganss C, Ren Y, Zero D T, Lussi A (2011) Methodology and models in erosion research: discussion and conclusions. *Caries Research* 45:69-77

Stafne EC, Lovestedt SA (1947) Dissolution of substance of teeth by lemon juice. Proceedings of the staff meetings. Mayo Clinic 22:81-84

Ten Cate JM, Imfeld T (1996) Dental erosion, summary. European Journal of Oral Sciences 104:241-244

Wiegand A, Attin T (2011) Design of erosion/abrasion studies - insights and rational concepts. Caries Research 45 Suppl 1:53-59

Wiegand A, Müller J, Werner C, Attin T (2006) Prevalence of erosive tooth wear and associated risk factors in 2-7-year-old German kindergarten children. Oral Diseases 12:117-124

Wiegand A, Wegehaupt F, Werner C, Attin T (2007) Susceptibility of acid-softened enamel to mechanical wear - ultrasonication versus toothbrushing abrasion. Caries Research 41:56-60

Wiegand A, Kuhn M, Sener B, Roos M, Attin T (2009) Abrasion of eroded dentin caused by toothpaste slurries of different abrasivity and toothbrushes of different filament diameter. Journal of Dentistry 37:480-484

Wiegand A, Schwerzmann M, Sener B, Magalhaes AC, Roos M, Ziebolz D (2008) Impact of toothpaste slurry abrasivity and toothbrush filament stiffness on abrasion of eroded enamel - an in vitro study. Acta Odontologica Scandinavica 66:231-235

Yan, J (2002) geepack: Yet Another Package for Generalized Estimating Equations R-News 2:12-14

Yassen GH, Platt JA, Hara AT (2011) Bovine teeth as substitute for human teeth in dental research: a review of literature. Journal of Oral Science 53:273-282

Young WG, Khan F (2002) Sites of dental erosion are saliva-dependent. Journal of Oral Rehabilitation 29:35-43

7 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Einteilung der Schmelzproben in ihre Gruppen (n=20) nach Lagerungszeit in Speichel (0, 0.5, 1, 2 h).....	19
Tabelle 2: Zeitpunkt der Längenmessungen aller Eindrücke (Erosionseindruck wurde zweimal gemessen).....	22
Tabelle 3: Mittelwerte (MW) mit Standardabweichungen (SD) der erfassten Mikrohärten (Basishärte sowie Härte nach Erosion und Abrasion) eingeteilt nach Lagerungszeit im Speichel (0, 0.5, 1 bzw. 2 h).....	26
Tabelle 4: Mittelwerte (Ismean), Standardfehler (SE), unteres (UKI) und oberes Konfidenzintervall (OKI) in Bezug auf die Lagerungszeit	27
Tabelle 5: Mittelwerte (Ismean), Standardabweichung (SE), unteres (UKI) und oberes Konfidenzintervall (OKI) in Bezug auf die Lagerungszeit	30

8 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Versuchsablauf Übersicht, je 2 Zähne wurden mit dem Speichel eines Probanden behandelt (20 Zähne/10 Probanden)	16
Abbildung 2: Schematische Darstellung der verwendeten Schmelzproben sowie profilometrische Darstellung der vermessenen Schmelzoberflächen mit entsprechenden Referenzflächen.....	23
Abbildung 3: Daten nach Remineralisierungszeit (Remin.h) und Knoop-Diamant-Eindruck gemessenem Abrieb (Abr) in nm, gruppiert in „Probe/Zahn“ bezüglich einem Speichelspender	28
Abbildung 4: Gemittelte Messwerte nach Remineralisierungszeit (r), gemessenem Abrieb (Abr) in nm, eingeteilt pro Speichelspender	29
Abbildung 5: Daten nach Remineralisierungszeit (Remin.h) und Profildifferenz gemessenen Profildifferenz (Pr) in nm, gruppiert in „Probe/Zahn“ bezüglich einem Speichelspender.....	31
Abbildung 6: Gemittelte Messwerte nach Remineralisierungszeit (r), gemessener Profildifferenz (Pr) in nm, eingeteilt pro Speichelspender	32
Abbildung 7: Boxplot zur Veranschaulichung der mittels Härtemessung (1) und Profilometrie (2) aufgenommenen Mittelwerte aller Substanzverluste.....	33
Abbildung 8: Die Messmethoden Knoop-Diamant-Eindruck (Abr) und Profilometrie (Pr) im Vergleich.....	34
Abbildung 9: Bland-Altman-Diagramm als Darstellung der Differenzen (diffs) der Messungen gegen deren Mittelwerte (means) geplottet.....	35
Abbildung 10: Anteiliger Substanzabtrag. Weiss: Abrasion mit 100 Bürststrichen, grau: restliche erweichte Schicht; Messung über Knoop-Eindrücke (K) und Profilometrie (P)	45
Abbildung 11: Schematische Darstellung eines Knoop-Eindrucks in erweichten Schmelz.....	46

9 Eigenleistung

Originalarbeit

Ich erkläre ausdrücklich, dass es sich bei der von mir eingereichten schriftlichen Arbeit mit dem Titel:

„Veränderung des abrasiven Substanzverlustes durch Speichelkontakt nach Erosion - eine In-vitro-Studie“

um eine von mir selbst und ohne unerlaubte Beihilfe sowie in eigenen Worten verfasste Originalarbeit handelt.

Ich bestätige überdies, dass die Arbeit als Ganzes oder in Teilen weder bereits einmal zur Abgeltung anderer Studienleistungen an der Universität Zürich oder an einer anderen Universität oder Ausbildungseinrichtung eingereicht worden ist.

Verwendung von Quellen

Ich erkläre ausdrücklich, dass ich sämtliche in der oben genannten Arbeit enthaltenen Bezüge auf fremde Quellen (einschliesslich Tabellen, Grafiken u. Ä.) als solche kenntlich gemacht habe. Insbesondere bestätige ich, dass ich ausnahmslos und nach bestem Wissen sowohl bei wörtlich übernommenen Aussagen (Zitaten) als auch bei in eigenen Worten wiedergegebenen Aussagen anderer Autorinnen oder Autoren (Paraphrasen) die Urheberschaft angegeben habe.

Sanktionen

Ich nehme zur Kenntnis, dass Arbeiten, welche die Grundsätze der Selbstständigkeitserklärung verletzen – insbesondere solche, die Zitate oder Paraphrasen ohne Herkunftsangaben enthalten –, als Plagiat betrachtet werden und die entsprechenden rechtlichen und disziplinarischen Konsequenzen nach sich ziehen können (gemäss §§ 7ff der Disziplinarordnung der Universität Zürich sowie §§ 51ff der Rahmenverordnung für das Studium in den Bachelor- und Master-Studiengängen an der Medizinischen Fakultät der Universität Zürich).

Ich bestätige mit meiner Unterschrift die Richtigkeit dieser Angaben.

Datum: 08. Juli 2016

Name: Tektas, Sibel

Unterschrift:.....

10 Verdankung

Herrn Prof. Dr. med. dent. Thomas Attin möchte ich für die freundliche Überlassung dieser hochinteressanten Arbeit herzlichst danken. Zudem bedanke ich mich für die Freiheit, die mir während jeder Phase dieser Studie gewährt wurde. Auch die jeweils prompte Beantwortung meiner Fragen ermöglichte ein speditives Voranschreiten der Arbeit. Besonders danken möchte ich für die tatkräftige und hilfsbereite Unterstützung die mir Herr Prof. Attin jederzeit zukommen liess, was massgeblich zum Erfolg dieser Arbeit verhalf.

Mein besonderer Dank gilt auch Frau Dr. med. dent. Valerie Steiger-Ronay für ihre unermüdliche und geduldige Betreuung und Leitung dieser Arbeit. Darüber hinaus danke ich ihr für ihre warmherzige, erfahrene und kompetente Unterstützung in allen Bereichen, welche wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat. Sie hat mich zu jeder Zeit mit ihrem unerschöpflichen Fundus an thematischen und wissenschaftlichen Hinweisen in neue Sphären gelenkt. Ihre wegweisenden und wissenschaftlich hochwertigen Ideen stellten während des gesamten Forschungsprojekts eine Bereicherung für mich dar.

Herrn Klaus Becker danke ich ganz herzlich für die professionelle und akribische Hilfe, die er mir jederzeit zur Verfügung stellte. Jede Phase dieser Arbeit wurde von ihm kompetent und tatkräftig begleitet. Für seine konstruktiven Ideen, die zu hervorragenden Ergebnissen führten, gebührt ihm ganz besonderer Dank. Zudem bedanke ich mich bei ihm und seinem Team für die freundliche Einführung in die Profilometrie und die Härtemesstechnik und die unentwegte Unterstützung im Labor. Ohne die wissenschaftliche Erfahrung und die innovativen Ideen von Herrn Becker, wäre die Durchführung dieser Studie nicht möglich gewesen.

Herrn Willi Bucher danke ich für die Herstellung des hervorragenden Adapters für die Schmelzproben, welche in Bern ihre Anwendung fanden.

Für die Erklärung und Unterstützung der statistischen Analysen danke ich Herrn Dr. sc. nat. Daniel Wiedemeier. Vielen Dank auch für die konstruktiven Gespräche bei der Auswertung des untersuchten Materials.

Herrn Prof. Dr. med. dent. Adrian Lussi danke ich herzlich für die Hilfe bei der Planung und Vorbereitung der Versuche. Besonders bedanken möchte ich mich für die Zurverfügungstellung des Härtemessgeräts und des Labormaterials am ZMK in Bern. Dank ihm wurde eine hervorragende Zusammenarbeit zwischen den beiden Universitäten erst möglich.

Für die wertvolle Unterstützung im Labor des ZMK in Bern möchte ich mich bei Herrn Dr. med. dent. Thiago Saads Carvalho bedanken sowie für die uneingeschränkte Hilfe bei der Umsetzung der Versuche.

Bei Frau Barbara Beyeler möchte ich mich besonders bedanken für die Politur und und Härtemessungen zahlloser Schmelzproben im Labor des ZMK in Bern. Ich danke für die mit stets grosser Sorgfalt und Präzision durchgeführten Messungen, welche ein perfektes Ausführen der Experimente ermöglichte.

Frau Beatrice Sener und ihrem Team danke ich für die zügige und präzise Durchführung der Speichelanalysen.

Zuletzt gilt mein Dank auch meinen Eltern, die mir das Studium der Zahnmedizin ermöglichten und mir auch während der Ausführung meiner Dissertation immerzu und unterstützend zur Seite standen. Für ihr liebevolles und unermüdliches Engagement gebührt ihnen ganz besonderer Dank.